



**T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**DOĞU MARMARA BÖLGESİNDE MARULDA KURŞUNİ KÜF
HASTALIĞI ETMENİ (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.)'NİN BAZI
FUNGİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

MEHMET KAVAK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. NEDİM ALTIN**

DÜZCE, 2022

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOĞU MARMARA BÖLGESİNDE MARULDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI
ETMENİ (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.)'NİN BAZI FUNGİSİTLERE KARŞI
DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Mehmet KAVAK tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Nedim ALTIN

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Nedim ALTIN

Düzce Üniversitesi

Prof. Dr. Salih KARABÖRKLÜ

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Doç. Dr. Barış GÜLCÜ

Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 07/12/2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

7 Aralık 2022

Mehmet KAVAK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Doç. Dr. Nedim ALTIN'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Volkan AYDINLI'ya, Mehmet YARBA'ya, Selman ADIYAMAN'a, Fatih URSAVAŐ'a, Remzi SAĞLIK'a ve sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

7 Aralık 2022

Mehmet KAVAK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR.....	ix
SİMGELER	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	10
2.1. MATERYAL	10
2.1.1. Denemede Kullanılan İzolatlar	10
2.1.2. Denemede Kullanılan Fungisitler	11
2.1.3. Denemede Kullanılan Besiyeri	11
2.2. YÖNTEM	11
2.2.1. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının İzolasyonu	11
2.2.2. Patojenisite Denemeleri	12
2.2.3. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Koloni Morfolojisine Göre Sınıflandırılması	12
2.2.4. <i>In vitro</i> Koşullarda <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Fungisitlere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi.....	13
2.2.4.1. <i>Botrytis cinerea</i> izolatlarının fungusitlere karşı duyarlılık azalışının belirlenmesi.....	13
2.2.4.2. Fungisitlerin minimal inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi	14
2.2.5. <i>B. cinerea</i> İzolatlarının Doğaya Uyum Yeteneklerinin Belirlenmesi.....	14
2.2.5.1. İzolatların misel gelişim (büyüme) hızının belirlenmesi	14
2.2.5.2. İzolatların spor verimlerinin belirlenmesi	15
2.2.6. Koparılmış Yaprak Testleri ile Fungisitlerin Etkililiğinin Belirlenmesi	15
2.2.7. İstatiksel Analiz	16
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
3.1. BULGULAR.....	17
3.1.1. <i>Botrytis cinerea</i> İzolasyonu ve İzolatların Koloni Morfolojisine Göre Sınıflandırılması	17
3.1.2. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Patojenisiteleri.....	19
3.1.3. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Fungisitlere Karşı Duyarlılık Düzeyleri ...	19
3.1.4. <i>Botrytis cinerea</i> İzolatlarının Doğaya Uyum Yetenekleri	27
3.1.4.1. İzolatların misel gelişimin (büyüme) hızı	27
3.1.4.2. İzolatların spor verimleri	28
3.1.5. Koparılmış Yaprak Denemesinde Fungisitlerin Etkililiği.....	29
3.2. TARTIŞMA.....	34
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	40
5. KAYNAKLAR.....	42

6. EKLER	47
6.1. EK1:YÜZDE GELİŞİM ORANLARI	47
ÖZGEÇMİŞ.....	50



ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. <i>Botrytis cinerea</i> 'nin marulda yaptığı zarar şekli	4
Şekil 2.1. <i>Botrytis cinerea</i> kolonilerinin morfolojik tipleri	13
Şekil 3.1. <i>Botrytis cinerea</i> izolatlarının marul yapraklarında oluşturmuş olduğu lezyon büyüklüğü	19
Şekil 3.2. Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilere <i>Botrytis cinerea</i> M2 ve M19 nolu izolatların misel gelişimleri.....	21
Şekil 3.3. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilere <i>Botrytis cinerea</i> M2 ve M19 nolu izolatların misel gelişimleri.....	22
Şekil 3.4. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilere <i>Botrytis cinerea</i> M8 ve M18 nolu izolatların misel gelişimleri.....	23
Şekil 3.5. <i>Botrytis cinerea</i> izolatlarının izolatlarının EC ₅₀ değerlerine (µg/ml) göre oransal (%) dağılımları.....	24
Şekil 3.6. <i>B. cinerea</i> izolatlarının MIC değerlerine (µg/ml) göre oransal (%) dağılımları	27
Şekil 3.7. İzolatlara ait spor sayıları	29
Şekil 3.8. Pyrimethanyl+fluopyram ile yapılan koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri.....	30
Şekil 3.9. Boscalid+pyraclostrobin ile yapılan koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri.....	32
Şekil 3.10. Fluxapyroxad+difenoconazole ile yapılan koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri.....	33

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1 Ülkelere göre marul üretim alanları.....	1
Çizelge 1.2 2017-2021 yılları arasında Türkiye’deki illere göre marul üretim alanları	2
Çizelge 2.1. <i>Botrytis cinerea</i> izolatları ve toplandığı yerler	10
Çizelge 2.2. Denemede kullanılan fungusitler.....	11
Çizelge 2.3. Koparılmış yaprak denemesinde kullanılan fungusitlerin dozları.....	15
Çizelge 3.1. Koloni morfolojisine göre sınıflandırma grupları ve bu gruplara giren <i>B. cinerea</i> izolatları.....	18
Çizelge 3.2. Farklı fungusitlere karşı <i>B. cinerea</i> izolatlarının EC ₅₀ değerleri (µg/ml)....	20
Çizelge 3.3. <i>Botrytis cinerea</i> izolatlarının EC ₅₀ değerlerine (µg/ml) göre sayısal (adet) dağılımları	23
Çizelge 3.4. Farklı fungusitlere karşı <i>B. cinerea</i> izolatlarının MIC değerleri (µg/ml)....	25
Çizelge 3.5. <i>Botrytis cinerea</i> izolatlarının MIC (µg/ml) değerlerinin sayısal dağılımları	26
Çizelge 3.6. <i>B. cinerea</i> izolatlarının misel gelişim hızları (mm).....	28
Çizelge 3.7. Koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri ve Pyrimethanil+fluopyram aktif maddelerini içeren fungusidin etkileri.....	29
Çizelge 3.8. Koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri ve Boscalid+Pyraclostrobin aktif maddelerini içeren fungusidin etkileri.....	31
Çizelge 3.9. Koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri ve Fluxapyroxad + Difenconazole aktif maddelerini içeren fungusidin etkileri.....	32
Çizelge 6.1. Pyrimethanil+fluopyram aktif maddelerinin farklı konsantrasyonlarında <i>B. cinerea</i> izolatlarının yüzde gelişim oranları (%)	47
Çizelge 6.2. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerinin farklı konsantrasyonlarında <i>B. cinerea</i> izolatlarının yüzde gelişim oranları (%)	48
Çizelge 6.3. Fluxapyroxad+difenconazole aktif maddelerinin farklı konsantrasyonlarında <i>B. cinerea</i> izolatlarının yüzde gelişim oranları (%)	49

KISALTMALAR

EC50	Misel gelişmesini % 50 engelleyen konsantrasyon
MIC	Minimal İnhibisyon Konsatrasyonu
NaClO	Sodyumhipoklorit
PDA	Ptates Dekstroz Agar
QoI	Quinone-outside inhibitör
SDHI	Succinate dehydrogenase inhibitor'ler



SİMGELER

°C	Santigrat derece
da	Dekar
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µg	Mikro gram
%	Yüzde



ÖZET

DOĞU MARMARA BÖLGESİNDE MARULDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.)'NİN BAZI FUNGİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Mehmet KAVAK
Düzce Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Nedim ALTIN
Aralık 2022, 49 sayfa

Marul üretiminde sorun olan önemli hastalıklardan birisi de *Botrytis cinerea* etmeninin neden olduğu kurşuni küf hastalığıdır. Bu etmen fungusitlere karşı en hızlı dayanıklılık kazanan mikroorganizmaların başında gelmektedir. Bu tez çalışması marulda kurşuni küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea* etmeninin bazı fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Örtüaltı marul üretiminin yapıldığı Bilecik ili Söğüt ilçesinden alınan örneklerden izolatlar elde edilmiştir. İzolatlar koloni morfolojileri yönüyle misel gelişimleri, sporulasyon ve sklerot üretimleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. İzolatların 125 g/L fluopyram+375 g/L pyrimethanil, % 26.7 boscalid+% 6.7 pyraclostrobin ve 75 g/L fluxapyroxad+50 g/L difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusitlere karşı olan duyarlılığındaki azalmalar *in vitro* koşullarda belirlenmiştir. Çalışmalar sonucunda 20 adet izolat elde edilmiştir. Koloni morfolojisine göre 4 adet izolat miselal grupta yer alırken 16 adet izolat sklerot grubunda yer almıştır. *In vitro* çalışmalar sonucunda fluopyram+pyrimethanil ve boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren fungusitlere karşı en yüksek EC₅₀ değeri M2 nolu izolatta tespit edilmiştir. M2 izolatu için hesaplanan EC₅₀ değeri sırasıyla 37.657 µg/ml ve 51.025 µg/ml olarak belirlenmiştir. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren funguside karşı ise en yüksek EC₅₀ değeri 11.154 µg/ml ile M8 nolu izolatta belirlenmiştir. Koparılmış yaprak demelerinde her bir funguside karşı en yüksek EC₅₀ değerine sahip olan 2 adet ve en düşük EC₅₀ değerine sahip olan bir adet izolat seçilmiş ve denenmiştir. Denemeler sonucunda EC₅₀ değeri yüksek olan izolatlar marul yapraklarında lezyon oluşturmuştur. Fungisitler bu izolatları engellemede başarısız olmuştur. Buna karşı EC₅₀ değeri düşük olan izolatlar ise marul yapraklarında lezyon oluşturamamıştır. Bu durum bu izolatların fungusitlere karşı duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır. Hem *in vitro* koşullarda hem de koparılmış yaprak denemelerinde bazı *Botrytis cinerea* izolatlarının kullanılan fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinde azalmalar olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Botrytis cinerea*, dayanıklılık, fungusit, marul.

ABSTRACT

DETERMINATION OF SENSITIVITY LEVELS OF GRAY MOLD DISEASE PATHOGEN (*Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr.) IN LETTUCE AGAINST SOME FUNGITS IN THE EASTERN MARMARA REGION

Mehmet KAVAK

Düzce University

Institute of Graduate Studies, Department of Palnt Protection

Master's Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nedim ALTIN

December 2022, 49 pages

One of the important diseases that causes a problem in lettuce production is gray mold disease caused by *Botrytis cinerea*. This pathogen is one of the microorganisms that gain the fastest resistance to fungicides. This thesis study was carried out to determine the susceptibility levels of *Botrytis cinerea*, which causes gray mold in lettuce, to some fungicides. Isolates were obtained from the samples taken from greenhouse lettuce production area in Söğüt district of Bilecik province. The isolates were evaluated according to colony morphology based on mycelial growth, sporulation and sclerotia production. The decreases in susceptibility of the isolates toward fungicides containing the active substances 125 g/L fluopyram+375 g/L pyrimethanil, 26.7% boscalid+6.7% pyraclostrobin and 75 g/L fluxapyroxad+50 g/L difenoconazole are determined in vitro condition. As a result of the studies, 20 isolates were obtained from samples. According to the colony morphology, 4 isolates were grouped in the mycelial group, while 16 isolates were grouped in the sclerotia group. As a result of in vitro studies, the highest EC₅₀ value determined in isolate of M2 against fungicides containing Fluopyram+pyrimethanil and boscalid+pyraclostrobin active substances. The EC₅₀ values calculated for M2 isolate was determined as 37.657 µg/ml and 51.025 µg/ml, respectively. Against the fungicide containing fluxapyroxad+difenoconazole active substances, the highest EC₅₀ value was determined in isolate of M8 with 11.154 µg/ml. In detached leaf test, 2 isolates with the highest EC₅₀ value and 1 isolate with the lowest EC₅₀ value were chosen and tested against each fungicide. As a result of the experiments, isolates with high EC₅₀ values formed lesions on lettuce leaves. Fungicides have failed to inhibit these isolates. On the other hand, isolate with low EC₅₀ value could not form lesions on lettuce leaves. This situation reveals that the isolate is sensitive to fungicides. It has been determined that some *Botrytis cinerea* isolates have low susceptibility toward used fungicides, both in vitro conditions and in detached leaf test.

Keywords: *Botrytis cinerea*, fungicide, lettuce, resistance.

1. GİRİŞ

Hemen hemen tüm yıl boyunca market rafları ve pazar tezgahlarından eksik olmayan marul, 2500 yılı aşkın süre boyunca Asya ve Avrupa'da hem sebze hem de tıbbi bitki olarak değerlendirilmiştir. Marul üreticiliğine ait ilk kayıtların M.Ö. 600 senelerinde Persler tarafından tutulduğu bilinmektedir. Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkistan marulunun anavatanı olarak kabul edilmektedir (Şalk, Arın, Deveci, & Polat, 2008).

Tek yıllık geniş yapraklı bir serin iklim bitkisi olan Marul (*Lactuca sativa L.*) Papatyagiller (*Asteraceae*) familyasında yer almaktadır. Taze yaprakları sebze olarak değerlendirilen marul, yüksek ticari öneme sahip türler arasında bulunmaktadır (Eşiyok, 2012). Bünyesinde bol miktarda A ve C vitaminleri, Ca, Fe, Mg ve K mineralleri ve yüksek oranda lif ve şeker bulunmaktadır (Kim, Moon, Tou, Mou, & Waterland, 2016). Vitamin ve mineral madde yönünden zengin içeriğe sahip olan marulunun insan beslenmesinde önemli bir yeri vardır.

Dünyanın birçok ülkesinde marul yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Dünya genelinde en çok marul üretimi yapan ülkeler ve bu ülkelerin 2016-2020 yılları arasındaki üretim alanları Çizelge 1.1'de verilmiştir (FAOSTAT, 2022).

Çizelge 1.1. Ülkelere göre marul üretim alanları.

Ülkeler	Marul üretim alanı(ha)				
	2016	2017	2018	2019	2020
Çin	596.612	605.403	609.917	603.979	606.434
Hindistan	174.690	176.253	177.524	176.156	176.644
ABD	128.161	131.640	115.580	105.700	107.690
İspanya	35.646	34.508	33.870	35.360	34.300
İtalya	34.343	34.069	34.460	33.690	32.100
Türkiye	22.639	22.944	22.780	23.182	23.954
Meksika	20.066	21.030	20.527	20.778	22.270
Japonya	21.600	21.800	21.700	21.200	21.221
Fransa	18.847	18.588	18.820	18.350	18.060
İran	12.580	14.477	14.725	13.927	14.377

2020 yılı kayıtları incelendiğinde 606.434 ha üretim alanı ile Çin, marul üretim alanlarında ilk sırada yer almaktadır. Çin’i Hindistan ve Amerika Birleşik Devletleri takip etmektedir. Türkiye ise 23.954 ha üretim alanı ile Dünya’da 6. sıradadır.

Türkiye’nin birçok bölgesinde sonbahar ile ilkbahar dönemleri arasında yetiştirilen ve bu dönemde tüketimi diğer sebze türleri arasında ilk sıralarda yer alan marul, üreticiye iyi kazanç sağlayabilecek sebzeler arasında yer almaktadır. Marul, kendisi gibi vejetasyon süresi kısa olan diğer sebze türleri ile rahatlıkla ekim nöbetine alınabilmektedir (Eşiyok, 2012). Türkiye’deki marul üretim alanlarının illere göre dağılımı 2017-2021 yılları için hesaplanmış ve çizelge 1.2’de verilmiştir (TÜİK, 2022).

Çizelge 1.2. 2017-2021 yılları arasında Türkiye’deki illere göre marul üretim alanları.

İller	Marul üretim alanı(da)				
	2017	2018	2019	2020	2021
Ankara	26.531	26.375	27.072	27.134	26.421
Adana	23.101	23.498	22.651	27.460	24.337
Mersin	16.652	16.831	18.062	19.604	19.147
Sakarya	12.469	12.578	13.438	14.842	16.575
Antalya	13.605	14.181	14.672	13.715	14.117
İzmir	11.150	11.107	11.096	11.480	10.101
Samsun	15.760	10.751	10.148	7.100	6.783
Bursa	5.451	5.059	5.371	5.521	5.608
Muğla	6.467	6.669	6.756	5.701	4.081
Hatay	8.468	7.150	4.298	3.069	2.866
Türkiye	220558	214619	215861	218.208	211.352

Çizelge 1.2’ye bakıldığında 2021 yılında 26.421 da üretim alanı ile Ankara ilk sırada yer almaktadır.

Marul yetiştiriciliğinde verim kaybına neden olan çeşitli biyotik ve abiyotik faktörler mevcuttur (Soylu, Sertkaya, Türem, Bozkurt, & Kurt, 2017). Uygun olmayan hava koşulları, elverişsiz toprak şartları, çevre kirliliği ve yanlış tarımsal uygulamalar abiyotik etkenlerdendir. Biyotik etkenler ise yabancı otlar, zararlılar ve hastalık etmenleridir.

Marul yetiştiriciliğinde ekonomik kayba neden olan birçok fungal hastalık bulunmaktadır. Bilhassa sonbahar ve kış üretim sezonunda en önemli sorunlardan birisi

de *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. (telemorf evresi *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz)'nın neden olduğu kurşuni küf hastalığıdır. *B. cinerea* ismi, fungusun morfolojik yapısından türetilmiştir. Konidioforların üzüme benzemesi nedeniyle Yunanca'da üzüm salkımı anlamına "Botrytis" kelimesi kullanılmış, sporlarının gri renginden dolayı da gri rengi ifade eden "cinerea" kelimesi türetilmiştir (Aghdam, 2017). *Botrytis cinerea*, Pezizomycotinia alt şubesi içerisinde, Sclereotiniaceae familyasına ait bir fungustur. *Botrytis* spp. farklı ekoloji, biyoloji, morfoloji, ve konukçu spektrumuna sahip polifag funguslardır (Elad, Williamson, Tudzynski, & Delen, 2007; Rossi vd., 2011). *Botrytis cinerea*, Dünya genelinde 200'den fazla bitkiyi enfekte edebilmektedir (Webster ve Weber, 2007; Williamson, Tudzynski, Tudzynski, & Van Kan, 2007). Yine farklı bir kaynakta *B. cinerea*'nın 586 bitki cinsini enfekte ettiği de bildirilmiştir (Elad, Vivier, & Fillinger, 2016). *B. cinerea* zayıflık paraziti olarak da bilinir. Kurşuni küf, marul üretimi yapılan örtü altı ve tarlalarda oldukça büyük zararlara sebep olabilmektedir (Ogilvie, 1949). *B. cinerea* dünya üzerinde ekonomik kayba neden olan en önemli fungal patojenler arasında yer almaktadır (Asadollahi, 2013).

Marulun bütün yetiştirme dönemlerinde kurşuni küfe rastlamak mümkündür. Kısa aralıklarla sulanmış ve sık ekilmiş marul fideleri etmen tarafından kolayca hastalandırılabilir. Etmen bitkiye çoğunlukla ölmek üzere olan kotiledon yapraklardan girerek, oradan gövde ve kök boğazına ilerler (Şekil 1.1). Kök boğazında yaptığı tahribat sonucu çökertene benzer hasar oluşturur. Hastalık, marulun toprağına temas eden yapraklarından başlayarak iç yapraklara doğru ilerlemektedir (Baykal, 1997).



Şekil 1.1. *Botrytis cinerea*'nın marulda yaptığı zarar şekli.

Botrytis cinerea etmeni ile mücadelede farklı yöntemler bulunmasına rağmen en sık kullanılan yöntem kimyasal mücadeledir. Biyolojik, fiziksel ve kültürel yöntemlere yeteri kadar önem verilmemektedir (Yiğit ve Boyraz, 2003). Özellikle *B. cinerea*'ya karşı kullanılan fungusitler yıllık 540 milyon avroya mal olmakta ve bu tutarın dünya fungusit pazarının % 10'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir (Dean vd., 2012).

Üreticiler *B. cinerea* etmenine karşı genellikle ya aynı fungusitleri ya da aynı etki mekanizmasına sahip diğer fungusitleri kullanmaktadır. Bu yüzden kurşuni küfe neden olan *B. cinerea* etmeninde fungusitlere karşı duyarlılık azalışı ortaya çıkmakta ve kimyasal mücadelede, beklenen başarı sağlanamamaktadır (Yiğit ve Boyraz, 2003). *Botrytis cinerea* özellikle tek yer engelleyici fungusitlere karşı dayanıklılık oluşturma potansiyeli yüksek olan mikroorganizmaların başında yer almaktadır (FRAC, 2022). Bunun nedeni olarak, etmenin yoğun spor üretimine sahip olmaları, kolay ve hızlı yayılmaları, fungusitlere karşı duyarlılık azalışı gösteren izolatların rekabet güçlerinin yüksek olması ve sporlar başta olmak üzere bütün hücrelerinde çok sayıda heterojen karakterde nükleus içeriyor olmaları gösterilmektedir (Dekker, 1982). Bu durum, *Botrytis* türlerinin fungusitlere karşı duyarlılıklarının azalmasına ve etmenle mücadelenin zorlaşmasına neden olmaktadır (Kennedy ve Collier 2000, Delen vd., 2004, Agrios, 2005).

Yapılan bir araştırmada *B. cinerea* izolatlarının anilinopyrimidine, hydroxyanilide ve phenylpyrrole grubu fungusitlere karşı dayanıklılıkları incelenmiştir. Anilinopyrimidine'ler hidrolitik enzimlerin salgılanmasını ve methionin biyosentezini engelleyici etki göstermektedir. Hydroxyanilide grubundan fenhexamid appressoriumun penetrasyonunu, fungal kolonizasyonu, çim tütü ve miselyal gelişimini engellemektedir. Fludioxonil ise phenylpyrrole grubu içerisinde yer alır ve çim tütü gelişimini engeller. Araştırma sonucunda fenhexamid ve cyprodinil fungusitlerine dayanıklı *B. cinerea* izolatlarının yaygın olduğu ve dayanıklılık oranının %54 ile %100 arasında değiştiği belirtilmektedir. Ayrıca fludioxonil'e dayanıklı bir izolata da rastlanmıştır (Baraffio, Siegfried & Hilber, 2003). Bir diğer çalışmada, maruldan izole edilen *B. cinerea* izolatlarının, iprodione, thiophanate-methyl, trifloxystrobin, fenhexamid, cyrodinil, boscalid, fluidioxonil (Weber ve Wichura, 2013), azoxystrobin, carbendazim, pyraclostrobin, pyrimethanil, (Chatzidimopoulos, Papaevaggelou & Pappas, 2013) etken maddelerine karşı farklı düzeylerde dayanıklılık oluşmaya başladığı da belirtilmiştir.

Topolovec-Pintaric ve Cvjetkovic (2001) tarafından *B. cinerea*'nın pyrimethanil'e karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda direnç oluşturma riski değerlendirilmiştir. *In vitro* koşullarda *B. cinerea*'nın pyrimethanil'e karşı duyarlılığı 1 mg/l konsantrasyonda denenmiştir. *In vitro* denemelerinde çok sayıda Ra2 sporu veren izolatlar *in vivo* koşullarda test edilmiştir. Çalışmalar sonucunda pyrimethanil'e karşı dayanıklı izolatlar belirlenmiş olmasına karşın izolatların hiç biri 100 mg/l konsantrasyonda %50'den fazla büyüme göstermemiştir. Bu durum Kutrjevo'daki deneme bölgesinde hala pratik direnç görölme tehlikesinin olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çin'de 2004 ve 2006 yılları arasında, *B. cinerea*'nın 228 izolatu, yeni bir aktif madde olan boscalide karşı duyarlılık açasından test edilmiş ve boscalide karşı dayanıklılık gelişme riskini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütölmüştür. Araştırma sonucunda *B. cinerea* izolatlarının boscalide karşı dayanıklılık geliştirme riskinin pyrimetanilden düşük olduğu ortaya konmuştur. Çalışmada ayrıca boscalid ve kresoximmethyl aktivitesi arasında sinerjik bir etki gözlenmiştir (Zhang vd., 2007).

Leroux, Gredt, Leroch & Walker, (2010) tarafından solunum engelleyici fungusitlerin etki mekanizmalarını ortaya koymak amacıyla bir çalışma yürütölmüştür. Strobilurinlere karşı meydana gelen direnç *cytb* hedef genindeki tek bir mutasyon ile ilişkilendirilmiştir. İntron bölgesindeki değişikliklerin direnç seçimini kontrol eden evrimsel bir süreç nedeniyle meydana gelmiş olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmada çeşitli direnç seviyeleri ve çapraz

direnç modelleri ile altı fenotip için carboxamides'lere spesifik direnç belirlenmiştir. Succinate dehydrogenase kompleksinin demir-kükürt ve anchor proteinini kodlayan *sdhB* ve *sdhD* genleri içinde *B. cinerea*'ya özgü birkaç mutasyon belirlenmiştir.

Kuzey Almanya'da 2010-2012 yıllarında yürütülen bir çalışmada 23 marul tarlasından 309 adet *B. cinerea* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların spesifik etki mekanizmasına sahip yedi adet funguside karşı duyarlılık düzeyleri belirlenmiştir. İzolatların %45'inin boscalid, %37.2'sinin iprodion aktif maddesine ve %56.3'ünün strobilurinlere karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Sonuçlara göre fungusitlerin ikisine veya üçüne birden dayanıklılık gösteren izolat sayısının sadece birine karşı dayanıklılık gösteren izolat sayısından daha fazla olduğu ifade edilmiştir. İzolatların %31.4'ünün cyprodinil ve %11.6'sının thiophanate-methyl aktif maddesine karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir. İzolatların çoğunluğunun marul tarlalarında kullanılan fungusitlerin birkaçına birden direnç kazanması çoklu dayanıklılığın yaygınlaştığını ortaya koymuştur (Weber ve Wichura; 2013).

Yunanistan'ın 6 farklı bölgesindeki marul ve diğer sebze türlerinden toplanan 790 izolatu, 9 ayrı kimyasal gruba ait 11 fungusite karşı duyarlılık düzeyleri test edilmiştir. Çalışma sonucunda 44 izolatu, cyprodinil ve pyrimetanil (anilinopyrimidinler), azoxystrobin ve pyraclostrobin (QoI'ler), boscalid (SDHI'ler), carbendazim (benzimidazoller), iprodione (dicarboximidler) ve fludioxonile (phenylpyrroller) karşı dayanıklılık geliştirdikleri belirlenmiştir (Chatzidimopoulos, Papaevaggelou & Pappas, 2013).

Mısır'da yürütülen bir çalışmada *B. cinerea* popülasyonunun *transposa*, *vacuma*, *boty* ve *flipper* elementi taşıdığı belirlenmiştir. Bu izolatlar fenhexamid'e duyarlıdır. Çalışmada *transposa* elementinin *B. cinerea* örneklerinin %63.6'sında bulunduğu belirtilmektedir. Dört adet *B. cinerea* izolatının lokasyon, konukçu bitki ve bitki organından bağımsız olarak fenhexamid'e duyarlı olduğu belirlenmiştir (Abdel Wahab, 2015).

Kaliforniya'da 6 farklı çilek tarlasından 59 adet *B. cinerea* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların boscalid, fenhexamid, iprodione ve pyraclostrobin aktif maddelerine karşı duyarlılık düzeyleri belirlenmiştir. Tüm izolatların iprodione aktif maddesine karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Ancak İzolatların %37'sinin pyraclostrobin, %31'inin fenhexamid, %29'unun ise boscalid aktif maddesine karşı dayanıklı olduğu saptanmıştır (Pokorny, Smilanick, Xiao, Farrar & Shrestha, 2016).

Almayda'da 2010-2015 yılları arasında ahududu, çilek, üzüm, sert çekirdekli meyveler ve süs bitkilerinden elde edilen *B. cinerea* izolatlarının direnç frekansları ve çoklu direnç oluşumu incelenmiştir. Kullanılan fungusitlere karşı dayanıklı izolatların oranının yüksek olduğu ve fungusitlere karşı çoklu dirence sahip izolatların *B. cinerea* populasyonunun büyük bir kısmını oluşturduğu ifade edilmiştir. Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda çoklu dirence sahip izolatların vejetatif büyümeleri, üremeleri, virülenslikleri ve rekabet güçlerinin hassas izolatlarla ile benzerlik göstermiştir (Rupp, Weber, Rieger, Detzel & Hahn, 2017).

Kaliforniya'da sofralık üzüm yetiştirilen bölgelerden toplanan 212 adet *B. cinerea* izolatının bazı fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesine yönelik bir çalışma yürütülmüştür. Çalışmada izolatların %85'inin boscalid, %23.1'inin cyprodinil, %13.7'sinin fenhexamid ve %94.8'inin pyraclostrobin aktif maddesine karşı direnç kazandığı belirlenmiştir. İzolatların tümünün fludioxonil aktif maddesine karşı duyarlı olduğu ortaya konmuştur. İzolatların %5.2'sinin denemede kullanılan fungusitlere karşı duyarlı olduğu, %8.9'unun bir aktif maddeye, %56.1'inin iki aktif maddeye, %23.6'sının üç aktif maddeye ve %6.1'inin ise dört aktif maddeye birden direnç kazandığı belirlenmiştir (Saito, Michailides, & Xiao, 2019).

Türkiye'de fungusitlere karşı duyarlılık azalışı konusunda yapılan ilk çalışma 1979 tarihidir (Nemli, 1979). Duyarlılık azalışı ile ilgili çalışmalar genellikle, *B. cinerea* üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, *B. cinerea* izolatlarının bağda carbendazim'e (Yıldız, 1999), örtü altı sebzelerinde benomyl'e (Delen, Yıldız & Manaite, 1984), domateste ipradion ve pyrimethanil'e (Delen vd., 2004; Koplay, 2004; Delen vd., 2005) karşı dayanıklılık kazandığı ortaya konmuştur.

Trakya'da yetiştirilen şaraplık ve sofralık üzüm çeşitlerinde yapılan bir çalışmada, *B. cinerea* izolatlarının anilopyrimidine (cyprodinil, pyrimethanil), dicarboximide (procymidone), phenylpyrrole (fludioxonil), imidazole (imazalil), pthalimide (captan) ve triazole (hexaconazole, tebuconazole, triadimenol, myclobutanil) duyarlılık düzeyleri minimal besiyerinde incelenmiş, fungusitlerin patojene karşı etkinlikleri ise meyve ve yapraklar üzerinde gözlenmiştir. Çalışmalar sonucunda izolatların tamamı captan, myclobutanil ve triadimenol'e dayanıklılık göstermişlerdir. Pyrimethanil, tebuconazole ve procymidone ise yalnızca inokule edilmiş taneler üzerinde etki göstermiştir (Köycü, 2007).

Akdeniz bölgesindeki seralardan toplanan 104 adet *B. cinerea* izolatının pyrimethanil, cyprodinil, fenhexam, fludioxonil ve iprodione aktif maddelerine karşı duyarlılık azalışının olup olmadığı araştırılmıştır. Misel gelişimleri yönüyle yapılan çalışmada EC₅₀ değerleri incelendiğinde cyprodinil + fludioxonil karışımı için 0.01 ve 0.03 µgmL⁻¹ arasında, iprodione için 0.78 ve 1.37 µgmL⁻¹ arasında, Pyrimethanil için 0.007 ve 0.009 µgmL⁻¹ arasında olduğu belirlenmiştir. *Botrytis cinerea* izolatlarının 40 adedi ile yapılan çalışmada fenhexamid aktif maddesine karşı izolatların 26'sında, iprodione karşı ise 13'ünde duyarlılık azalışı meydana gelmiştir. Denemeye alınan fungusitler arasında *B. cinerea*'nin hiçbir izolatında pyrimethanil'e karşı duyarlılık azalışı gözlenmediği ve denemede kullanılan fungusitlerden iprodione ve fenhexamid arasında zayıf pozitif çapraz direnç belirlendiği ifade edilmiştir (Zeteroğlu, 2012).

Ege Bölgesi'nde yürütülen çalışmada bağ alanlarından *B. cinerea* izolatları toplanmıştır. Bu izolatların pyrimethanil, iprodione, fenhexamid, cyprodinil+fludioxonil, boscalid aktif maddelerine karşı duyarlılık düzeylerinde azalmaların olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Aktif maddelerden pyrimethanil ve iprodione misel gelişimi engellemede başarısız olurken fenhexamid ve cyprodinil+fludioxonil aktif maddeleri oldukça başarılı olmuştur. *In vivo* koşullarda 5-10 µg/ml doz aralığında pyrimethanil aktif maddesinin izolatların %50'sinin, İprodione aktif maddesinin ise %70'inin misel gelişimini engelleyemediği belirtilmiştir (Selvi, 2015).

Antalya, Muğla, ve İzmir illerinde yürütülen çalışmada örtüaltı yetiştiriciliği yapılan yerlerden *B. cinerea* izolatları toplanmıştır. Bu izolatların duyarlılık azalışı pyrimethanil, iprodione, fenhexamid, boscaid+pyraclostrobin, pyrimethanil+fluopyram ve fludioxonil aktif maddelerine karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırılmıştır. Çalışma sonucunda ED50 değerleri değerlendirildiğinde fungusitlerin *B. cinerea* izolatlarının miselyal gelişimine etkilerinin oldukça farklı düzeylerde olduğu ortaya konmuştur. Pyrimethanil aktif maddesi 10-30 µg/ml konsantrasyonda izolatların misel gelişimlerini engelleyemediği fenhexamid, fludioxonil, boscalid + pyraclostrobin ve fluopyram + pyrimethanil aktif maddelerinin ise 0.03-0.1 µg/ml konsantrasyonlarda misel gelişimini engelleyebildiği belirtilmektedir (Aghdam, 2017).

Antalya ilinde yapılan bir çalışmada domates seralarından *B. cinerea* izolatları elde edilmiştir. Bu izolatların Signum® (boscalid + pyraclostrobin) ve Cantus® (boscalid) fungusitlerine karşı duyarlılık düzeyleri belirlenmiştir. Misel gelişimleri yönüyle yapılan denemelerde hassas izolatların EC₅₀ değerleri boscalid'e karşı 0,7 ile 8,6 µg/ml arasında,

boscalid + pyraclostrobin aktif maddelerine karşı 0,1 ile 1,9 µg/ml arasında olduğu belirlenmiştir. Denemede kullanılan *B. cinerea* izolatlarının %20'sinin her iki funguside karşı da duyarlılıklarında azalmalar meydana geldiği belirlenmiştir. Boscalid'e karşı duyarlılık azalışı meydana gelmiş ancak boscalid + pyraclostrobin'e karşı duyarlı izolatların bulunamadığı ifade edilmiştir (Gül, Karataş, Karakaya, 2021).

Ülkemizde marul yetiştiriciliği her bölgede yapılabilmektedir. Bazı bölgelerde hem açık alanda hemde örtüaltı üretimde Kurşuni küf hastalığı görülebilmektedir. Ülkemizde tez çalışmasının yürütüldüğü dönemde bu hastalığa karşı sadece bir adet biyolojik preparat ruhsatlı bulunmaktaydı. Ancak üreticilerin bu hastalığa karşı çeşitli fungusitleri kullandıkları arazi çalışmaları ve uzmanlar ile yapılan görüşmeler sonucunda belirlenmiştir. Üreticiler tarafından özellikle Marulda beyaz çürüklük (*Sclerotinia sclerotiorum*) hastalığına karşı ruhsatlı olan preparatlar bu hastalık için de kullanılmaktadır. Bu durumda dayanıklılık kazanma riski yüksek olan *Botrytis cinerea* etmeninin pratikte kullanılan bu fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin ne olduğu merak konusu olmuştur. Bu tez çalışması Doğu Marmara Bölgesinde marulda kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea*'nın bazı fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. MATERYAL

2.1.1. Denemede Kullanılan İzolatlar

Çalışmamızın materyallerden biri olan *B. cinerea* izolatları Bilecik ili Söğüt ilçesinde bulunan marul seraları ile Düzce ili Merkez ilçesindeki marul seralarından toplanan hastalıklı marul bitkilerinden elde edilmiştir (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. *Botrytis cinerea* izolatları ve toplandığı yerler.

İzolat No	Alındığı yer	Koordinatlar
M1	Bilecik - Söğüt	40°03'59"K - 30°15'37"D
M2	Bilecik - Söğüt	40°03'58"K - 30°15'38"D
M3	Bilecik - Söğüt	40°04'15"K - 30°15'42"D
M4	Bilecik - Söğüt	40°04'17"K - 30°15'41"D
M5	Bilecik - Söğüt	40°04'17"K - 30°15'43"D
M6	Bilecik - Söğüt	40°04'15"K - 30°15'40"D
M7	Bilecik - Söğüt	40°04'45"K - 30°16'01"D
M8	Bilecik - Söğüt	40°04'44"K - 30°16'05"D
M9	Bilecik - Söğüt	40°04'43"K - 30°16'03"D
M10	Bilecik - Söğüt	40°03'57"K - 30°15'36"D
M11	Bilecik - Söğüt	40°03'56"K - 30°15'35"D
M12	Bilecik - Söğüt	40°05'12"K - 30°16'08"D
M13	Bilecik - Söğüt	40°05'13"K - 30°16'10"D
M14	Bilecik - Söğüt	40°05'13"K - 30°16'06"D
M15	Bilecik - Söğüt	40°05'14"K - 30°16'07"D
M16	Bilecik - Söğüt	40°05'20"K - 30°16'09"D
M17	Düzce - Merkez	40°53'16"K - 31°10'21"D
M18	Düzce - Merkez	40°49'09"K - 31°09'22"D
M19	Düzce - Merkez	40°53'15"K - 31°10'22"D
M20	Düzce - Merkez	40°49'10"K - 31°09'22"D

Düzce ilindeki üretimler küçük aile işletmeleridir. Bu işletme üretimlerinde geçmişten günümüze kadar denemede kullanmış olduğumuz fungusitler de dahil olmak üzere

herhangi bir fungusit kullanılmamıştır. Bu nedenle bu bölgeden elde edilen izolatlar doğal duyarlı izolatlar olarak kullanılmıştır.

2.1.2. Denemede Kullanılan Fungisitler

Tez çalışmasının yapıldığı tarihte marulda *B. cinerea* etmeninin neden olduğu kurşuni küf hastalığına karşı ruhsatlı biyolojik preparat olan *Bacillus amyloliquefaciens* ırkı MBI600 (SERİFEL) dışında ruhsatlı bir fungusit bulunmamaktadır. Ancak sektör temsilcileri, ilaç bayileri ve üreticiler ile yapılan kişisel görüşmelerde marul seralarında üreticilerin kurşuni küf hastalığına karşı ruhsatlı olmamasına rağmen en fazla kullandıkları fungusitler belirlenmiş ve yürütmüş olduğumuz çalışmada değerlendirilmiştir (Çizelge 2.2). Üreticilerin bu fungusitleri kullanmalarındaki temel çıkış noktası *Sclerotinia sclerotium* etmeninin neden olduğu marulda beyaz çürüklük hastalığına karşı ruhsatlı olmasıdır.

Çizelge 2.2. Denemede kullanılan fungusitler.

Aktif madde adı ve oranı	Formülasyon Şekli	Ruhsat Dozu	Ruhsat Tarihi ve Numarası
375 g/L pyrimethanil + 125 g/L fluopyram	SC	100 ml/da	18.09.2014 / 9824
% 26.7 boscalid + % 6.7 pyraclostrobin	WG	150 g/da	25.02.2005 / 5032
75 g/L fluxapyroxad + 50 g/L difenoconazole	SC	200 ml/da	13.07.2017 / 10927

2.1.3. Denemede Kullanılan Besiyeri

Çalışmada hem *B. cinerea* izolatların elde edilme sürecinde hem de *in vitro* koşullarda *B. cinerea* izolatların fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinde PDA (Potato dextrose agar) besiyeri kullanılmıştır. Bir litre besiyeri hazırlamak için 200g patates, 20 g glikoz, 15 g agar ve 1 litre saf su kullanılmıştır.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. *Botrytis cinerea* İzolatlarının İzolasyonu

Bilecik ve Düzce illerinde marul yetiştiriciliği yapılan seralardan hastalıklı marul bitkileri kökleri ile birlikte toplanmıştır. Soğuk zincirde laboratuvara getirilen marul bitkilerinin

hem hastalıklı yapraklarından hem de kök boğazı kısmından hastalıklı ve sağlıklı dokuyu içerecek şekilde 1 cm büyüklüğünde örnekler alınmıştır. Örneklerin %0.5'lik sodyumhipoklorit (NaClO) içerisinde 1 dakika süreyle yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ve ardından örnekler iki kez steril saf su içerisinde yıkanmıştır. Örnekler steril kurutma kağıtları içerisinde kurutulduktan sonra içerisinde PDA besiyeri bulunan petrilere yerleştirilmiştir. Bu petriler 24±°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Ekim işleminden 3 gün sonra petrilere gelişen *B. cinerea* kolonilerinin uç kısımlarından miseller alınarak yeni PDA besiyerine ekim işlemi gerçekleştirilip inkübasyona bırakılmıştır. Saflaştırılan bu kolonilerden de tek spor kültürleri elde edilmiştir. Elde edilen tek spor kültürleri daha sonraki denemelerde kullanılmak üzere PDA eğik ağı içerisinde buzdolabında saklanmıştır (Weber ve Wichura, 2013; Gül, Karataş, & Karakaya, 2021).

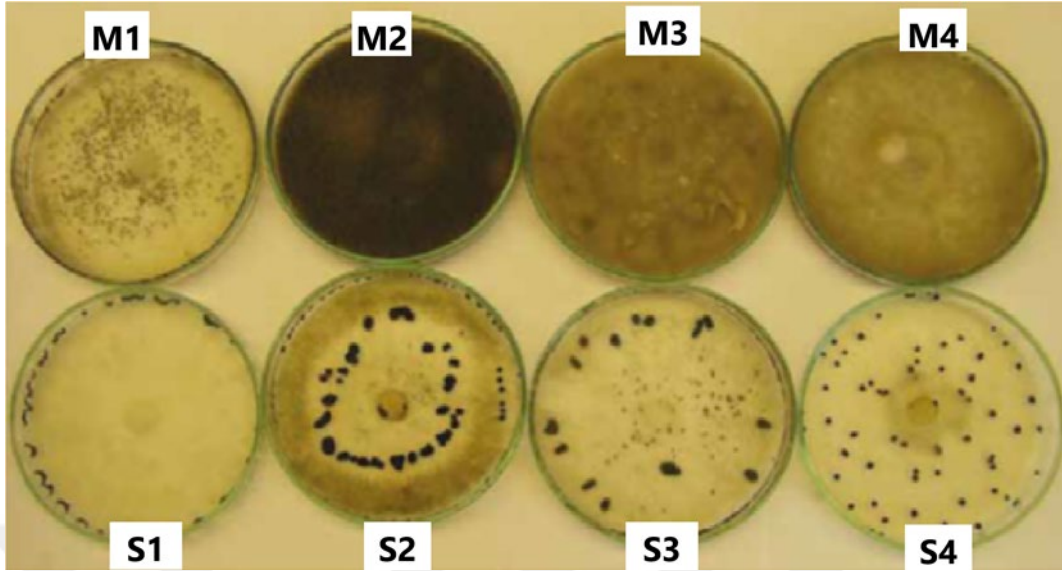
2.2.2. Patojenisite Denemeleri

Patojenisite çalışmaları maritima marul çeşidinden koparılmış yapraklarda gerçekleştirilmiştir. Koparılmış marul yapraklarının %0.5'lik sodyumhipoklorit ile yüzey dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra yapraklar steril su ile yıkanmıştır. Steril kurutma kağıtları plastik küvetlere yerleştirilmiş ve steril su ile nemlendirilmiştir. Nemli kurutma kağıtları ile marul yapraklarının temasını önlemek amacıyla küvetler içerisine steril cam çubuklar yerleştirilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan marul yaprakları bu küvetlerin içerisine konulmuştur. PDA besiyerinde 24±°C'de 3 gün süre ile geliştirilen *B. cinerea* izolatlarının koloni kenarlarından alınan 0.5mm büyüklüğündeki misel diskleri misel kısmı yapraklara degecek şekilde yerleştirilmiştir. Küvetlerin üzeri polietilen torba ile örtülerek 24±°C'de bir hafta süre ile inkübasyonu bırakılmıştır. Kontrol olarak *B. cinerea* içermeyen PDA diskleri kullanılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda oluşan lezyon çapları iki farklı yönde ölçülerek ortalamaları alınmıştır. Her bir izolat için 4 yaprak ve her yaprakta iki lezyon olmak üzere toplam 8 lezyon değerlendirilmiştir (Vallejo, Carbu, Rebordinos, & Cantoral, 2003).

2.2.3. Botrytis cinerea İzolatlarının Koloni Morfolojisine Göre Sınıflandırılması

Botrytis cinerea izolatları karanlık koşullarda PDA besiyerinde 24±°C'de 3 hafta süreyle geliştirilmiştir. Her bir izolat için 5 petri kullanılmıştır. 3 hafta sonunda izolatlar misel gelişimleri, sporulasyon ve sklerot üretimleri yönüyle değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler daha önceki çalışmalarda belirlenen sekiz morfolojik tipe göre yapılmıştır (Şekil 2.1) (Martinez vd., 2003; Tanovic, Delibasic, Milivojevic & Nikolic,

2009).



Şekil 2.1. *Botrytis cinerea* kolonilerinin morfolojik tipleri; M1: Sporsuz kısa miselyum, M2: Sporülasyonlu havai miselyum, M3: Misel kitleleri, M4: Kalın ve yünlü miselyum, S1: Sklerotlar petri kabının kenarında, S2: Büyük sklerot ve bir daire şeklinde dizilmiş, S3: Büyük sklerot, düzensiz dağılmış, S4: Küçük sklerot ve dağınık (Tanovic, Delibasic, Milivojevic & Nikolic, 2009).

2.2.4. *İn vitro* Koşullarda *Botrytis cinerea* İzolatlarının Fungisitlere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi

2.2.4.1. *Botrytis cinerea* izolatlarının fungusitlere karşı duyarlılık azalışının belirlenmesi

Denemede *B. cinerea* izolatlarının 125 g/L fluopyram + 375 g/L pyrimethanil, % 26.7 boscalid + % 6.7 pyraclostrobin ve 75 g/L fluxapyroxad + 50 g/L difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusitlere karşı olan duyarlılık azalışı belirlenmiştir. Duyarlılık azalışını belirlemek amacıyla fungusitlerin 0-100 µg/ml (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, ve 100 µg/ml) aralığındaki konsantrasyonları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan konsantrasyonları elde etmek amacıyla steril saf su kullanılarak fungusitlerin 1000 ve 3000 µg/ml stok konsantrasyonları hazırlanmıştır. Konsantrasyonlar hazırlanırken her bir fungusidin içermiş olduğu aktif madde oranları dikkate alınmıştır. Steril edilmiş ve 50°C'ye kadar soğutulmuş PDA besiyerine her bir konsantrasyon için gerekli olan miktar stok solüsyonlardan alınarak karıştırılmış ve petrilere dökülmüştür. Fungisit içermeyen PDA besiyeri kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol olarak kullanılan besiyerlerine denemede homojenliği sağlamak amacıyla her konsantrasyon için gerektiği kadar steril

su ilave edilmiştir. PDA besi yerinde geliştirilmiş 3 günlük *B. cinerea* kolonilerinin kenarından alınan 5 mm çapındaki misel diskler fungal gelişim kısmı alta gelecek şekilde fungusit içeren her bir petriye 3'er adet olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bu petriler $24\pm^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda petrilerde gelişen kolonilerin çapı her biri ölçüm merkezden geçmek koşulu ile birbirine çapraz olacak şekilde iki kez ölçülmüş ve bu iki ölçümün ortalaması alınmıştır. İzolatların kontrole göre her konsantrasyon için yüzde gelişim oranları bulunmuştur. Yüzde gelişim oranları üzerinden de her bir izolatın EC_{50} (Misel gelişmesini % 50 engelleyen konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuştur (Abdel Wahab, 2015; Gül, Karataş & Karakaya, 2021).

2.2.4.2. *Fungisitlerin minimal inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi*

Denemede kullanılan fungusitlerin marul bitkilerinden elde etmiş olduğumuz *B. cinerea* izolatları üzerindeki minimal inhibisyon konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla (2.2.4.1) bölümünde belirtilen yöntem kullanılmıştır. Yöntemde belirtildiği şekilde inkübasyon süresinin sonunda misel koloni çapları ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda her bir izolat için misel gelişmenin görülmediği fungusitlerin en düşük konsantrasyonları (MIC: Minimal Inhibisyon Konsantrasyonu) belirlenmiştir.

2.2.5. *B. cinerea İzolatlarının Doğaya Uyum Yeteneklerinin Belirlenmesi*

Denemeler sonucunda izolatlar her bir funguside karşı farklı düzeylerde duyarlılık azalışı gösterdiği için tüm izolatların doğaya uyum yetenekleri belirlenmiştir. İzolatların doğaya uyum yetenekleri spor verimleri ve misel gelişim hızları dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Duyarlılık azalışı olan izolatlardan elde edilen değerler duyarlı izolatlardan elde edilen değerler ile karşılaştırılmıştır (Dekker, 1982).

2.2.5.1. *İzolatların misel gelişim (büyüme) hızının belirlenmesi*

Denemelerde kullanılan izolatların fungusit içermeyen PDA besiyerinde misel gelişim hızları belirlenmiştir. PDA besiyeri sterilize edilerek petrilere dökülmüştür. Bu petrilerin orta kısmına PDA besiyerinde geliştirilen 3 günlük *B. cinerea* izolatlarına ait kolonilerin kenar kısımlarından alınan 5 mm çapındaki misel diskler yerleştirilmiştir. Misel disklerin fungal gelişim gösteren kısmının besi ortamına değmesine dikkat edilmiştir. Bu petriler $24\pm^{\circ}\text{C}$ 'de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İzolatlara ait koloni çapları günlük olarak ölçülmüştür. Ölçümler sonucunda izolatların ortalama koloni çapları mm/gün olarak belirlenmiş ve istatistiki analizleri yapılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme

desenine göre 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür (Latorre, Spadaro & Riojaba, 2002).

2.2.5.2. İzolatların spor verimlerinin belirlenmesi

Denemede kullanılan izolatların spor verimleri fungusit içermeyen PDA besiyerinde tespit edilmiştir. *B. cinerea* izolatları PDA besiyerinde bir hafta süreyle $24\pm^{\circ}\text{C}$ 'de geliştirilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda petrilere 5 ml steril su ilave edilmiş ve sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Spor süspansiyonu iki katlı steril tülbenkten süzülmüştür. Bu işlemin ardından thoma kan sayım lamı (Hemocytometre) kullanarak her izolatin spor sayımları yapılmıştır. Spor sayımları her izolat için üç tekrarlı yapılmıştır. Sayımlar sonucunda her izolatin 1 ml'deki ortalama spor sayıları belirlenmiş ve istatistik analizleri yapılmıştır (Latorre, Spadaro & Riojaba, 2002; Zhang, vd., 2007).

2.2.6. Koparılmış Yaprak Testleri ile Fungisitlerin Etkililiğinin Belirlenmesi

Deneme *in vitro* koşullarda gerçekleştirilen duyarlılık azalışı çalışması sonuçlarına göre belirlenen en dayanıklı iki izolat ve bir adet duyarlı izolat ile yürütülmüştür. Denemede fungusitlerin *Sclerotinia sclerotium* etmeninin neden olduğu marulda beyaz çürüklük hastalığına karşı ruhsatlı dozları esas alınmıştır. Denemede fungusitlerin ruhsat dozu, 2/3 ve 1/3 dozları kullanılmıştır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Koparılmış yaprak denemesinde kullanılan fungusitlerin dozları.

Aktif madde	Ruhsatlı doz (Etiket üzerindeki doz)	Denemede kullanılan dozlar
375 g/l Pyrimethanyl + 125 g/L Fluopyram	100 ml/da	100 ml/da
		66.66 ml/da
		33.33 ml/da
% 27.7 Boscalid + % 6.7 Pyraclostrobin	150 g/da	150 g/da
		100 g/da
		50 g/da
75 g/L Fluxapyroxad + 50 g/L Difenconazole	200 ml/da	200 ml/da
		133.33 ml/da
		66.66 ml/da

Çalışmalar maritima marul çeşidinden koparılmış yapraklarda gerçekleştirilmiştir. Koparılmış marul yaprakları %0.5'lik sodyumhipoklorit ile yüzey dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra steril su ile yıkanmıştır. Steril kurutma kağıtları plastik küvetlere yerleştirilmiş ve steril su ile nemlendirilmiştir. Nemli kurutma kağıtları ile marul

yapraklarının temasını önlemek amacıyla küvetler içerisine steril cam çubuklar yerleştirilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan marul yaprakları bu küvetlerin içerisine konulmuştur. PDA besiyerinde $24\pm^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün süre ile geliştirilen *Botrytis cinerea* izolatlarının koloni kenarlarından alınan 0.5mm büyüklüğündeki misel diskleri misel kısmı yapraklara degecek şekilde yerleştirilmiştir. Her bir misel diskinin üzerine fungusitlerin belirlenen dozlarına göre hazırlanmış konsantrasyonlardan misel disklerini kaplayacak şekilde mikropipet yardımıyla 50 µl damlatılmıştır. Küvetlerin üzeri naylon torba ile örtülerek $24\pm^{\circ}\text{C}$ 'de bir hafta süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak *B. cinerea* içermeyen PDA diskleri ve *B. cinerea* içeren PDA diskleri kullanılmış ve üzerlerine steril saf su damlatılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda oluşan lezyon çapları iki farklı yönde ölçülerek ortalamaları alınmıştır. Her bir izolat için 4 yaprak ve her yaprakta iki lezyon olmak üzere toplam 8 lezyon değerlendirilmiştir (Vallejo, Carbu, Rebordinos & Cantoral, 2003)

2.2.7. İstatiksel Analiz

Koparılmış yaprak denemesinde izolatların etkilerinin belirlenmesinde JMP 5.0.1a (SAS Institute, USA) istatistik programı kullanılmıştır. Lezyon büyüklüklerine ait ortalamalar varyans analizine (ANOVA) tabi tutularak fungusitlerin etkileri belirlenmiştir. Etki değerlerinin kıyaslanmasında %95'lik güven aralığında Duncan testi uygulanmıştır. EC_{50} değeri (misel gelişimini %50 oranında azaltan etkili konsantrasyon) probit analiz yapılarak belirlenmiştir. Probit analizlerinde SPSS programı (SPSS 17.0 commercial software, SPSS, Inc., Chicago, IL) kullanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. BULGULAR

3.1.1. *Botrytis cinerea* İzolasyonu ve İzolatların Koloni Morfolojisine Göre Sınıflandırılması

Bilecik ili Söğüt ilçesinde örtüaltı marul yetiştiriciliği yapılan bölgeden alınan ve hastalık belirtisi gösteren marul örneklerinden izolasyonlar yapılmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda 16 adet izolat elde edilmiştir. Düzce ili merkez ilçesinde marul yetiştiriciliği küçük aile işletmesi şeklindedir. Üretimler daha çok semt pazarlarında değerlendirilmekte olup bir kısmı da kendi ihtiyaçlarını karşılamaktadır. Genelde yetiştiricilik döneminde üreticiler hastalıklara karşı fungusit kullanmayı tercih etmemektedirler. Örneklerin alındığı bölgede ise şimdiye kadar denemede kullanmış olduğumuz fungusitler de dahil olmak üzere herhangi bir fungusit kullanımı olmamıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda bu bölgeden 4 adet izolat elde edilmiştir. Tüm izolatların tek spor kültürleri elde edilmiş ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere eğik agarda saklanmıştır.

İzolatlar PDA besi ortamındaki misel gelişimleri, sporulasyon ve sklerot üretimleri yönüyle koloni morfolojilerine göre sınıflandırılmıştır (Çizelge 3.1.). Değerlendirmeler daha önceki çalışmalarda belirlenen sekiz morfolojik tipe göre yapılmıştır (Martinez vd., 2003; Tanovic, Delibasic, Milivojevic & Nikolic, 2009). Yapılan değerlendirmeler sonucunda *B. cinerea*'nın M2 ve M6 nolu izolatlarının sadece misel ve spor oluşturduğu belirlenmiş ve koloni morfolojisine göre M2 grubunda yer aldığı saptanmıştır. *B. cinerea*'nın M3 ve M20 nolu izolatlarının miselleri kitleler halinde gelişmesi nedeniyle koloni morfolojisine göre M3 grubunda değerlendirilmiştir. Koloni morfolojisi yönüyle sklerot oluşturan izolatlar değerlendirildiğinde *B. cinerea*'nın M19 nolu izolatının S1 grubuna girdiği görülmüştür. Bu grupta sklerotlar petri kabının kenarlarında oluşmaktadır. *B. cinerea*'nın M5, M9, M10, M15 ve M17 nolu izolatları büyük sklerot oluşturmuş olup bu sklerotlar bir daire biçiminde dizilmiştir. Bu izolatlar koloni morfolojisine göre S2 grubunda sınıflandırılmıştır. Koloni morfolojisine göre büyük sklerotların düzensiz dağıldığı S3 grubuna ise *B. cinerea*'nın M7, M8, M13, M14, M16 ve M18 nolu izolatları yer almıştır. Koloni morfolojisine göre küçük ve dağınık sklerot

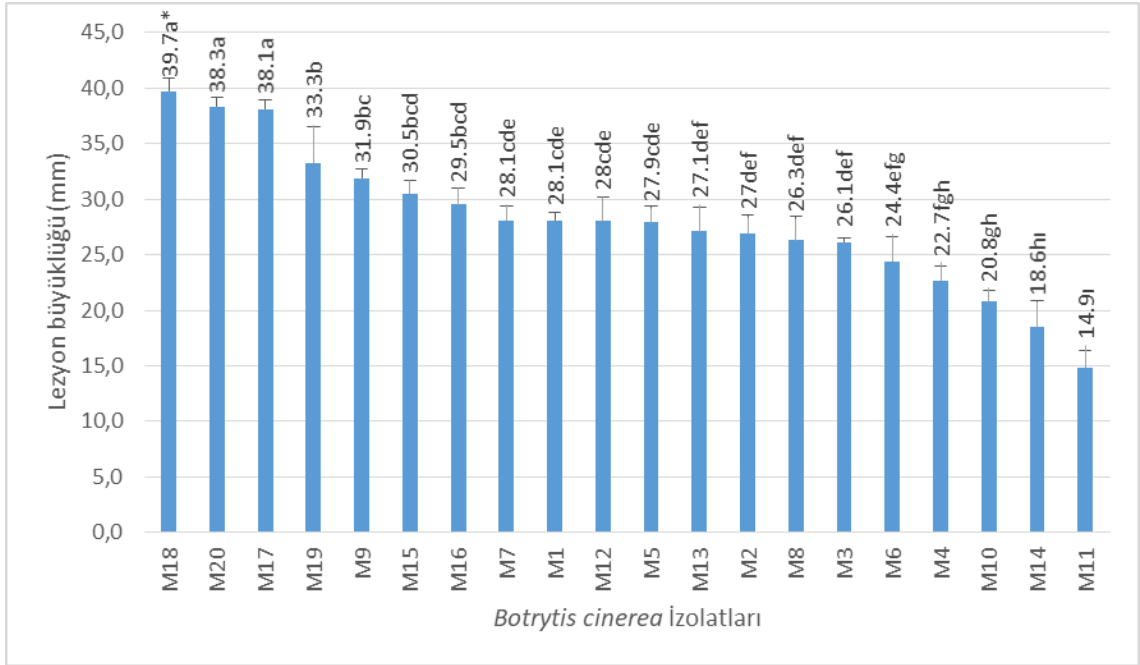
oluşumunun görüldüğü S4 grubunda ise *B. cinerea*'nın M1, M4, M11 ve M12 nolu izolatları yer almıştır. *Botrytis cinerea* M4 nolu izolat diğer izolatlardan farklı olarak mor renkli misel oluşturmuştur.

Çizelge 3.1. Koloni morfolojisine göre sınıflandırma grupları ve bu gruplara giren *B. cinerea* izolatları.

Koloni morfolojisine göre sınıflandırma grubu	<i>Botrytis cinerea</i> izolatlarının girdiği gruplar
M1 (Sporsuz kısa miselyum)	-
M2 (Sportülasyonlu havai miselyum)	M2, M6
M3 (Misel kitleleri)	M3, M20
M4 (Kalın ve yünlü miselyum)	-
S1 (Sklerotlar petri kabının kenarında)	M19
S2 (Büyük sklerot ve bir daire şeklinde dizilmiş)	M5, M9, M10, M15, M17
S3 (Büyük sklerot, düzensiz dağılmış)	M7, M8, M13, M14, M16, M18
S4 (Küçük sklerot ve dağınık)	M1, M4, M11, M12

3.1.2. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Patojenisiteleri

Botrytis cinerea izolatlarının patojenisite sonuçları incelendiğinde Düzce ilinden izole edilen M17, M18, M19 ve M20 nolu izolatların marul yapraklarında oluşturmuş oldukları lezyonların diğer izolatlara göre daha büyük olduğu görülmektedir. Bu izolatların lezyon büyüklükleri 33.3-39.7 arasında değişim göstermiştir. Bu durum bu izolatların virülensliklerinin diğer izolatlardan daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer izolatların lezyon büyüklükleri 14.9-31.9 mm arasında değişmektedir.



Şekil 3.1. *Botrytis cinerea* izolatlarının marul yapraklarında oluşturmuş olduğu lezyon büyüklüğü.

*Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

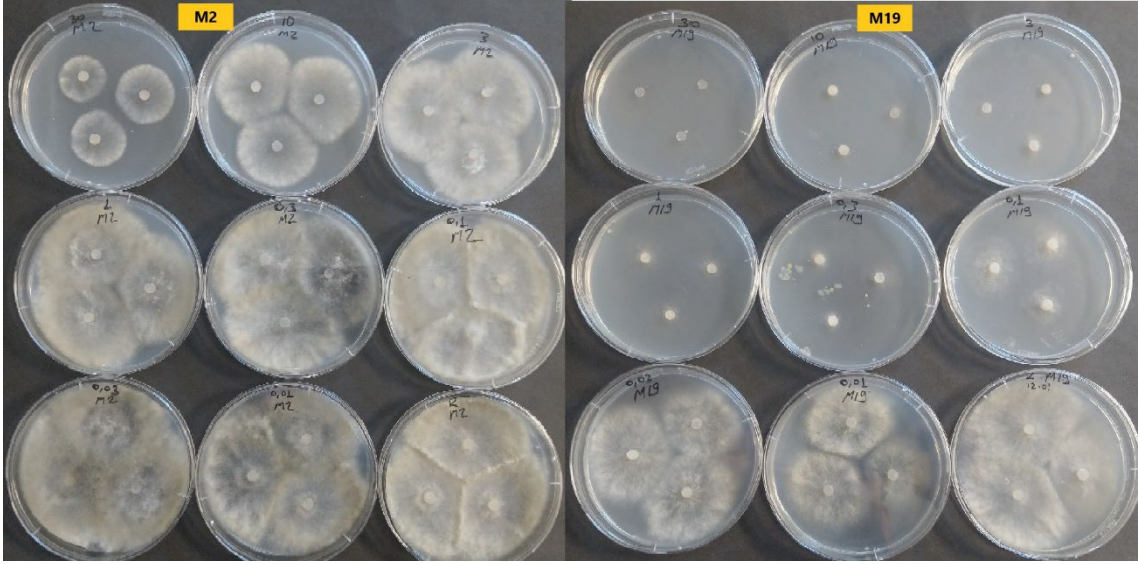
3.1.3. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Fungisitlere Karşı Duyarlılık Düzeyleri

Botrytis cinerea izolatlarının tez çalışmasında kullanılan fungusitlere karşı (8 farklı konsantrasyonda) duyarlılık azalışının belirlenmesine yönelik yapılan denemeler sonucunda her bir fungusit için farklı sonuçlar elde edilmiştir. İzolatların kontrole göre belirlenen yüzde gelişim oranları her bir fungusit için Ek 1’de Çizelge 6.1, 6.2 ve 6.3’te verilmiştir. Yüzde gelişim oranları üzerinden de her bir izolatın EC₅₀ (Misel gelişmesini % 50 engelleyen konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir. Fungisitlerin belirlenen EC₅₀ (µg/ml) değerleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Farklı fungusitlere karşı *B. cinerea* izolatlarının EC₅₀ değerleri (µg/ml).

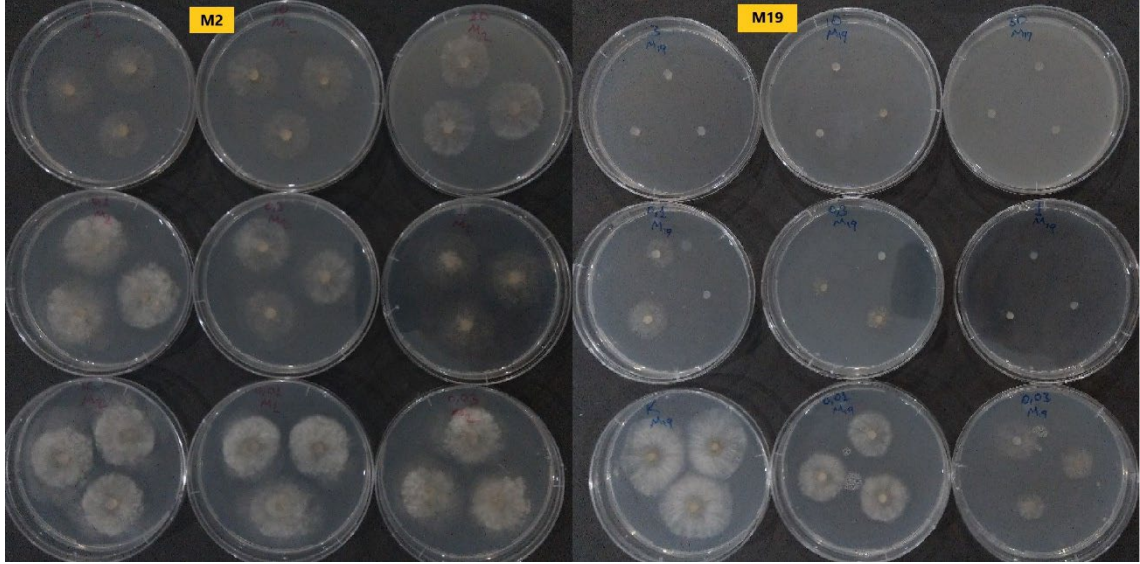
<i>Botrytis cinerea</i> izolatları	Fungisitler		
	Pyrimethanyl+ Fluopyram	Boscalid+ Pyraclostrobin	Fluxapyroxad+ Difenconazole
M1	7.848	25.828	0.393
M2	37.657	51.025	0.59
M3	37.12	25.529	0.27
M4	0.334	0.054	1.53
M5	0.739	0.093	3.151
M6	6.85	21.704	0.51
M7	9.938	5.699	2.725
M8	18.434	44.921	11.154
M9	0.687	0.113	1.056
M10	7.238	17.64	0.435
M11	0.469	0.056	4.377
M12	9.267	9.165	0.822
M13	18.503	11.77	3.574
M14	21.953	11.336	0.62
M15	6.715	0.044	4.476
M16	1.479	6.714	3.277
M17	0.188	0.03	0.701
M18	0.867	0.038	0.302
M19	0.11	0.017	1.968
M20	0.146	0.029	0.443

Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerine karşı Düzce ilinden elde edilen ve doğal duyarlı olduğu kabul edilen M17, M18, M19 ve M20 nolu izolatların EC₅₀ değerleri 0.11-0.867 µg/ml arasındadır. *B. cinerea*'nın M4, M5, M9 ve M11 nolu izolatların EC₅₀ değerleri 1 µg/ml altında olduğu belirlenmiştir. Bu izolatların da pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerine karşı duyarlı olduğu düşünülmektedir. Düzce izolatları ile karşılaştırıldığında özellikle *B. cinerea*'nın M2, M3, M7, M8, M12, M13 ve M14 izolatlarının bu funguside kaşı duyarlılıklarında önemli ölçüde azalma olduğu görülmektedir. Diğer bir deyişle bu izolatların fungusitlere karşı dayanıklılık kazanmaya başladığı düşünülmektedir. Özellikle 100 µg/ml konsantrasyonda bile M2, M8, M13 ve M14 nolu izolatların misel gelişimleri devam etmiştir. Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilerde *B. cinerea*'nın M2 ve M19 nolu izolatlarının misel gelişimleri Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



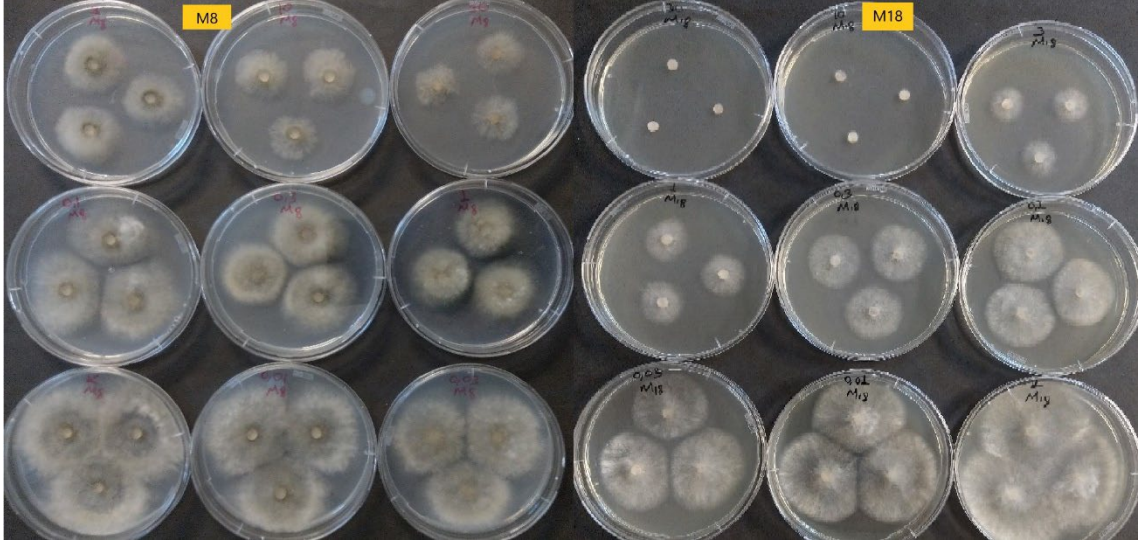
Şekil 3.2. Pyrimethanil+fluopyram aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilere *Botrytis cinerea* M2 ve M19 nolu izolatların misel gelişimleri.

Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren fungicide karşı *B. cinerea* izolatlarının EC₅₀ değerleri (µg/ml) arasında oldukça farklılıklar bulunmaktadır. Doğal duyarlı olarak kabul edilen *B. cinerea*'nın M17, M18, M19 ve M20 nolu izolatlarının EC₅₀ değerleri 0.017-0.038 µg/ml arasında olduğu belirlenmiştir. EC₅₀ değerleri 0.1 µg/ml ve altında olan *B. cinerea*'nın M4, M5, M9, M11 ve M15 nolu izolatlarının bu fungicide karşı duyarlılıklarını kaybetmemiş olduğu görülmektedir. *B. cinerea*'nın M1, M2, M3, M6, M8, M10, M13 ve M14 nolu izolatları fungicide karşı duyarlılıklarında azalış olmaya başladığı düşünülmektedir. Bu izolatların EC₅₀ değerleri 11.336-51.025 µg/ml arasında değişmekte olup duyarlı olduğunu kabul ettiğimiz düzce izolatları esas alındığında EC₅₀ değerleri yaklaşık 600- 1300 kat artış göstermiştir. *B. cinerea*'nın M1, M2, M3, M6, M7, M8, M10, M12, M13, M14 ve M16 nolu izolatların misel gelişimleri bu fungisidin 100 µg/ml konsantrasyonda da devam etmiştir. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilere *B. cinerea*'nın M2 ve M19 nolu izolatlarının misel gelişimleri Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilerde *Botrytis cinerea* M2 ve M19 nolu izolatların misel gelişimleri.

Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren fungicide kaşı *B. cinerea* izolatlarının EC_{50} değerleri ($\mu\text{g/ml}$) diğer iki fungicide göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Doğal duyarlı Düzce izolatları M17, M18 ve M20'nin EC_{50} değerleri 0,302-0,701 $\mu\text{g/ml}$ arasındadır. Ancak Düzce'den izole edilen M19 izolatının EC_{50} değerleri diğerlerinden farklı olarak 1,968 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Bu fungicide karşı en yüksek EC_{50} değeri 11.154 $\mu\text{g/ml}$ olan *B. cinerea*'nın M8 nolu izolatıdır. Bu izolatın EC_{50} değeri diğer iki fungicide karşı da yüksek olduğu görülmektedir. EC_{50} değerleri 1 $\mu\text{g/ml}$ altında olan *B. cinerea*'nın M1, M2, M3, M6, M10, M12 ve M14 nolu izolatları fungicide karşı duyarlılıklarını kaybetmemişlerdir. Ancak bu fungicide karşı duyarlı olduğunu düşündüğümüz bu izolatlar diğer iki fungicide karşı EC_{50} değerlerinin yüksek olması ilerisi için endişe vericidir. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilerde *B. cinerea*'nın M8 ve M18 nolu izolatlarının misel gelişimleri Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerinin farklı dozlarının uygulandığı petrilerde *Botrytis cinerea* M8 ve M18 nolu izolatların misel gelişimleri.

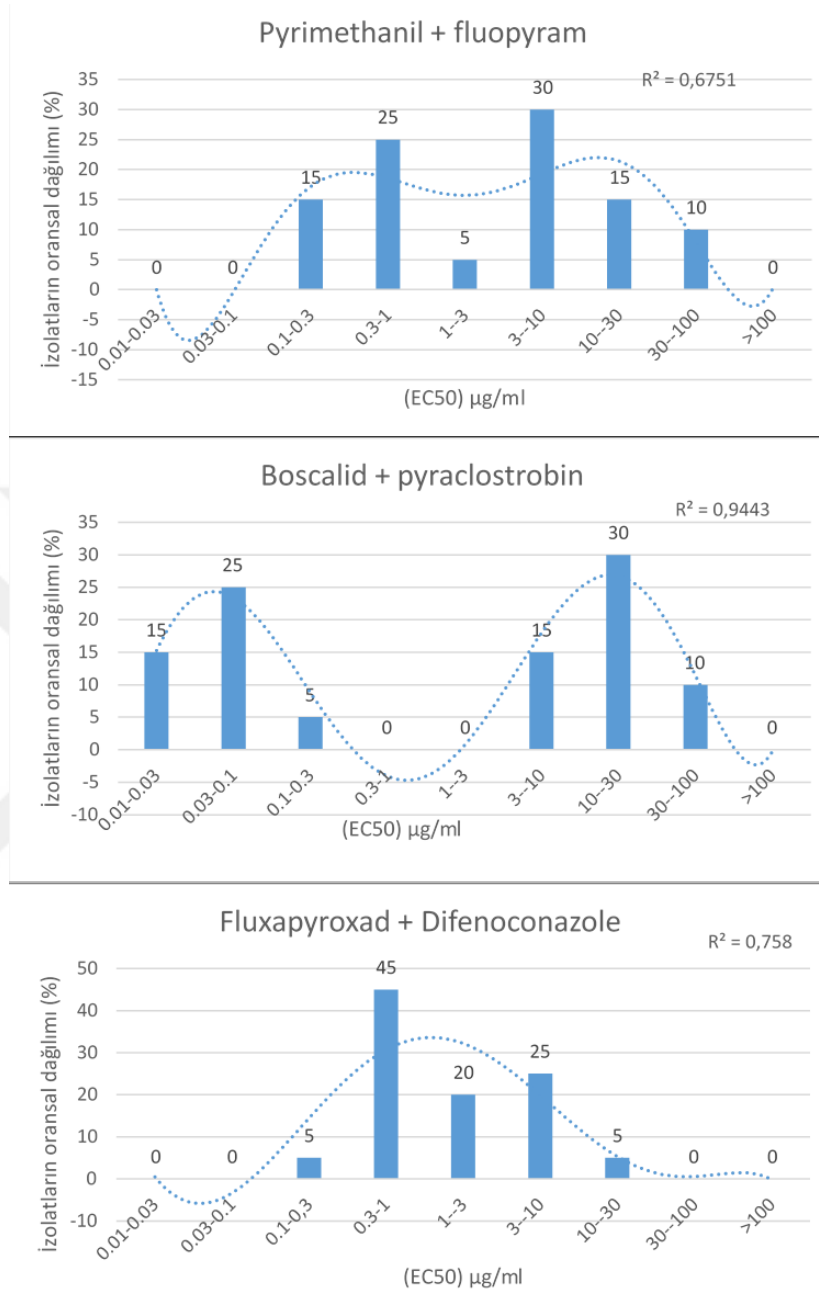
Botrytis cinerea izolatlarının her fungusit için belirlenmiş olan EC₅₀ değerlerinin sayısal dağılımı Çizelge 3.3’de verilmiştir. Oransal dağılımları ise grafik halinde gösterilmiştir (Şekil 3.5). Grafiklere altıncı dereceden polinom eğim eğrisi ilave edilmiştir. Polinom eğrilerindeki R² değerlerinin 1’e yakın olması eğim eğrilerinin uyumlu olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.3. *Botrytis cinerea* izolatlarının EC₅₀ değerlerine (µg/ml) göre sayısal (adet) dağılımları.

Fungisitler	Konsantrasyonlar(µg/ml)								
	0.01-0.03	0.03-0.1	0.1-0.3	0.3-1	1-3	3-10	10-30	30-100	>100
Pyrimethanyl+fluopyram	0	0	3	5	1	6	3	2	0
Boscalid+pyraclostrobin	3	5	1	0	0	3	6	2	0
Fluxapyroxad+difenoconazole	0	0	1	9	4	5	1	0	0

Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddesini içeren fungusit ile yapılan çalışmada 5 adet izolatın EC₅₀ değerinin 0,3-1 µg/ml aralığında olduğu görülmektedir. 3-10 µg/ml konsantrasyon aralığında ise 6 adet izolatın olduğu görülmektedir. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddesini içeren fungusit çalışmasındaki EC₅₀ değerlerinin dağılımlarına bakıldığında izolatların iki farklı grupta toplandığı görülmektedir. Bir grup izolatın EC₅₀ değerleri 0.01-0.3 µg/ml konsantrasyon aralığında yer alırken diğer grup izolatın EC₅₀ değerleri 3-100 µg/ml konsantrasyon aralığında yer almıştır. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddesini içeren fungusitte ise izolatların yarısına ait

EC₅₀ değerleri 0.1-1 µg/ml kosalasyon aralığında yer almıştır. Diğer yarısına ait EC₅₀ değerlerinin 1-30 µg/ml kosalasyon aralığında olduğu belirlenmiştir.



şekil 3.5. *Botrytis cinerea* izolatlarının izolatlarının EC₅₀ değerlerine (µg/ml) göre oransal (%) dağılımları.

Botrytis cinerea izolatlarına uygulanan aktif maddeler için hesaplanan EC₅₀ değerlerinden yola çıkılarak hesaplanan izolat dağılımları incelendiğinde ve 1 µg/ml değeri esas alındığında; izolatların %60'ının pyrimethanil+fluopyram aktif maddesine, %55'inin boscalid+pyraclostrobin aktif maddesine, %50'sinin ise Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddesine sahip fungusitlere karşı duyarlılıklarında

azalma olduğu gör÷lmektedir.

In vitro koşullarda *B. cinerea* izolatlarının tez çalışmasında yer alan fungusitlere karşı MIC (misel gelişmesinin tamamen engellendiği en düşük konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir (izelge 3.4).

Çizelge 3.4. Farklı fungusitlere karşı *B. cinerea* izolatlarının MIC değerleri ($\mu\text{g/ml}$).

<i>B. cinerea</i> izolatları	Fungisitler		
	Pyrimethanyl+ Fluopyram	Boscalid+ Pyraclostrobin	Fluxapyroxad+ Difenoconazole
M1	100	>100	100
M2	>100	>100	10
M3	100	>100	100
M4	100	10	30
M5	100	100	>100
M6	100	>100	100
M7	100	>100	100
M8	>100	>100	>100
M9	100	10	100
M10	100	>100	10
M11	100	1	100
M12	100	>100	100
M13	>100	>100	100
M14	>100	>100	100
M15	100	1	100
M16	30	>100	>100
M17	30	3	30
M18	30	1	10
M19	30	1	100
M20	30	1	10

Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerini içeren funguside karşı izolatların MIC değerleri incelendiğinde D÷zce izolatları olan M17, M18, M19 ve M20 nolu izolatların MIC değerinin 30 $\mu\text{g/ml}$ olduğu gör÷lmektedir. Bu izolatların dışında M16 nolu izoaltın da MIC değeri 30 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Diğer izolatların MIC değerleri oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. *B. cinerea*'nın M1, M3, M4, M5, M6, M7, M9, M10, M11, M12 ve M15 nolu izolatların MIC değerinin 100 $\mu\text{g/ml}$ olduğu saptanmıştır. *B. cinerea*'nın M2, M8, M13 ve M14 nolu izolatların ise MIC değeri 100 $\mu\text{g/ml}$ 'den fazladır.

Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren funguside karşı *Botrytis cinerea* izolatlarının MIC değerleri arasında oldukça farklılık bulunmaktadır. *B. cinerea*'nın M11,

M15, M18, M19 ve M20 nolu izolatların MIC değeri 1 µg/ml olmasına rağmen M1, M2, M3, M6, M7, M8, M10, M12, M13, M14 ve M16 nolu izolatlarda 100 µg/ml'den fazla olduğu belirlenmiştir.

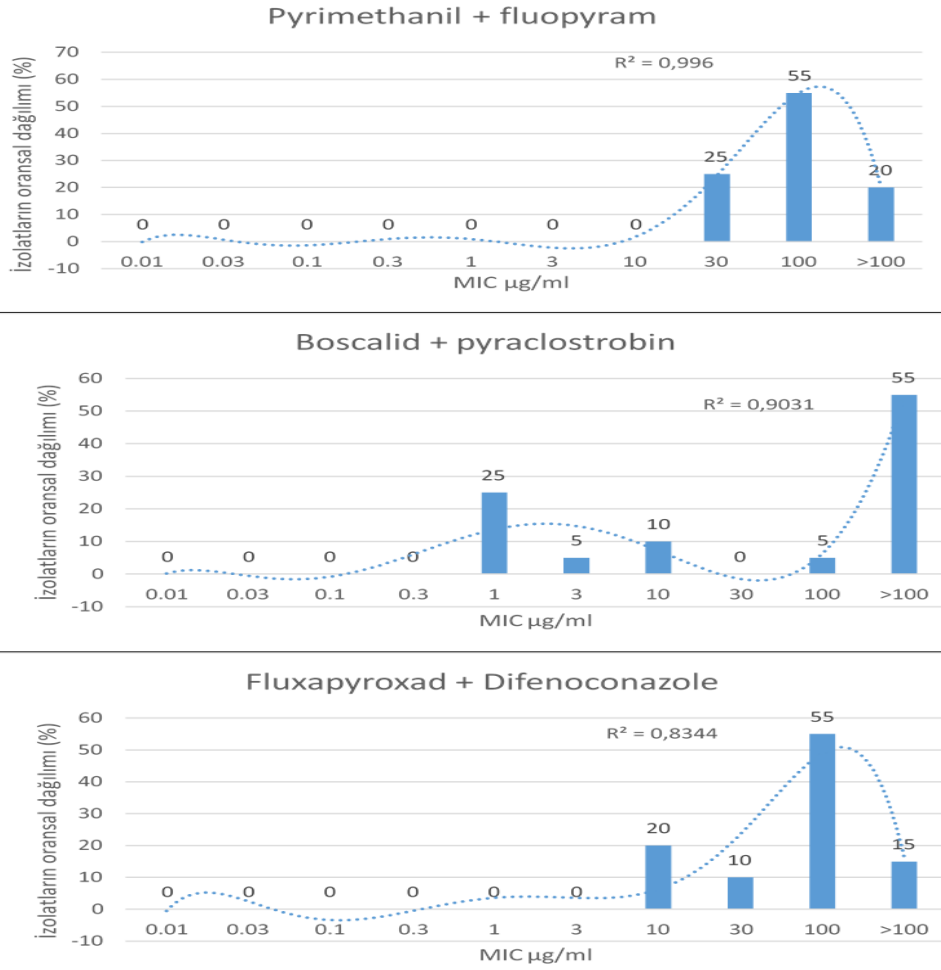
Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren funguside karşı izolatların MIC değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. En az MIC değeri *B. cinerea*'nın M2, M10, M18 ve M20 nolu izolatlarında 10 µg/ml olarak belirlenmiştir. İzolatların büyük çoğunluğunun MIC değerlerinin 100 µg/ml olduğu saptanmıştır.

İzolatların her fungusit için belirlenmiş olan MIC değerlerinin sayısal dağılımı Çizelge 3.5'de verilmiştir. Oransal dağılımları ise grafik halinde gösterilmiştir (Şekil 3.6). Grafiklere altıncı dereceden polinom eğim eğrisi ilave edilmiştir. Polinom eğrilerindeki R² değerlerinin 1'e yakın olması eğim eğrilerinin doğru olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.5. *Botrytis cinerea* izolatlarının MIC (µg/ml) değerlerinin sayısal dağılımları.

Fungisitler	Konsantrasyonlar(µg/ml)									
	0.01	0.03	0.1	0.3	1	3	10	30	100	>100
pyrimethanyl+fluopyram	0	0	0	0	0	0	0	5	11	4
boscalid+pyraclostrobin	0	0	0	0	5	1	2	0	1	11
fluxapyroxad+difenoconazole	0	0	0	0	0	0	4	2	11	3

Pyrimethanyl+fluopyram ve fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusitlere karşı izolatların yaklaşık %55'inin (11 adet) MIC değerleri 100 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddesini içeren funguside karşı izolatların belirlenmiş olan MIC değerleri arasında farklılıklar görülmektedir. İzolatların yaklaşık %55'inin (11 adet) MIC değerleri 100 µg/ml üzerinde olmasına karşı %25'inin (5adet) 1µg/ml olduğu belirlenmiştir. Bu 5 adet izolatın funguside karşı oldukça duyarlı olduğu görülmektedir.



Şekil 3.6. *B. cinerea* izolatlarının MIC değerlerine (µg/ml) göre oransal (%) dağılımları.

3.1.4. *Botrytis cinerea* İzolatlarının Doğaya Uyum Yetenekleri

3.1.4.1. İzolatların misel gelişim (büyüme) hızı

Botrytis cinerea izolatlarının misel gelişim hızlarının belirlenmesine yönelik yürütülen çalışmaların sonuçları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

En hızlı gelişim 1. günde M5 izolatında iken, diğer günlerde M1 nolu izolatta görülmüştür. İlk üç günde izolatların gelişimleri arasında farklılıklar görülse de 4. günde 11 izolat tüm petriyi kaplamıştır. Geri kalan 9 izolat ise 5. günde petriyi kaplamıştır. Denemenin 5. gününde izolatların tamamı gelişimlerini tamamlamıştır.

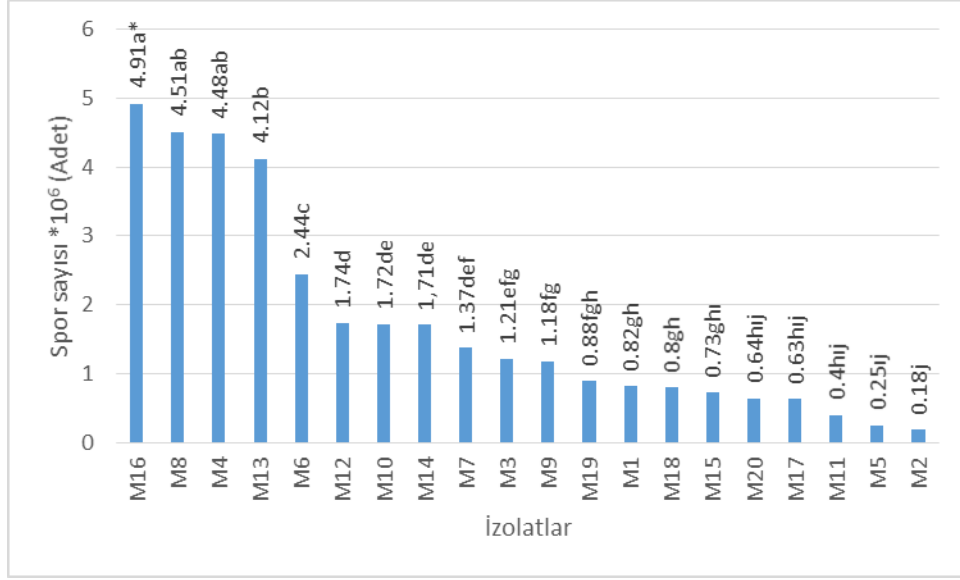
Çizelge 3.6. *B. cinerea* izolatlarının misel gelişim hızları (mm).

1.gün		2.gün		3.gün		4.gün	
İzolat	Koloni çapı(mm)	İzolat	Koloni çapı(mm)	İzolat	Koloni çapı(mm)	İzolat	Koloni çapı(mm)
M5	11.77a*	M1	35.66a*	M1	59.76a*	M1	78a*
M1	11.55a	M5	35.10ab	M3	58.97ab	M3	78a
M6	10.50ab	M3	31.19bc	M12	57.88abc	M12	78a
M12	9.93b	M10	29.98cd	M20	57.65abc	M20	78a
M3	9.90b	M12	29.70cd	M5	57.14abcd	M5	78a
M7	9.54bc	M6	29.57cde	M4	56.83abcde	M4	78a
M2	9.24bc	M20	29.18cde	M10	55.37bcdef	M10	78a
M10	9.19bcd	M4	28.61cdef	M13	54.27cdefg	M13	78a
M20	8.24dce	M13	28.04cdefg	M6	53.60defgh	M6	78a
M13	7.63def	M7	26.85defgh	M14	52.94efgh	M17	78a
M4	7.11efg	M14	25.69efghı	M2	51.74fghı	M19	78a
M8	7.02efg	M9	24.98fghij	M17	50.70ghı	M14	75.44ab
M14	6.47fgh	M2	24.51ghij	M9	50.63ghı	M2	73.50bc
M9	6.42fgh	M17	24.33ghij	M7	50.41ghı	M7	72.83bcd
M17	6.28fgh	M19	24.08hij	M19	50.23hı	M15	70.99cde
M19	5.97gh	M11	22.47ijk	M11	48.01ı	M9	70.88cde
M15	5.62gh	M8	21.71jk	M15	43.93j	M18	70.39de
M11	5.17hı	M18	19.62kl	M18	43.57j	M11	69.15ef
M16	5.07hı	M15	19.52kl	M8	43.54j	M16	66.75f
M18	3.98ı	M16	17.12l	M16	39.07k	M8	63.59g

*Sütunlarda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

3.1.4.2. İzolatların spor verimleri

Botrytis cinerea izolatlarının spor verimleri yönüyle *in vitro* koşullarda yapılan çalışma sonuçları incelendiğinde izolatlar arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. Spor verimleri yapılan sayımlar sonucunda spor yoğunluğu 10^6 olarak belirlenmiştir (Şekil 3.3). En yüksek spor verimi 4.91×10^6 ile M16 nolu izolatta belirlenirken en düşük spor verimi 0.18×10^6 ile M2 nolu izolatta saptanmıştır. Tez çalışmasında kullanılan üç funguside karşı EC_{50} değerleri yüksek olan M8 nolu izolatın spor veriminin de yüksek olduğu görülmektedir. Bezer şekilde EC_{50} değerleri yüksek olan *B. cinerea*'nın M13, M6, M12, M10, M14, M7 ve M3 nolu izolatlarının spor verimleri de yüksektir. Ancak M2 ve M1 izolatlarının EC_{50} değerleri yüksek olmasına rağmen spor verileri düşüktür.



Şekil 3.7. İzolatlara ait spor sayıları

*Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$).

3.1.5. Koparılmış Yaprak Denemesinde Fungisitlerin Etkililiği

Dayanıklı ve duyarlı izolatların reaksiyonlarını belirlemek amacıyla fungisitlerin ruhsat dozu(1/1) ve 2/3 ve 1/3 dozları koparılmış yaprak denemesinde kullanılmıştır. Koparılmış yaprak denemesi sonucunda izolatların meydana getirmiş oldukları lezyon büyüklükleri ölçülmüş ve fungisitlerin etkileri belirlenmiştir (Çizelge 3.7, 3.8, 3.9).

Çizelge 3.7. Koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri ve Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerini içeren fungisidin etkileri.

İzolatlar	Kullanılan dozlar						
	Kontrol	33.33 ml/da		.66.66 ml/da		100 ml/da	
	Lezyon büyüklüğü (mm)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)
M2(D)	25.38	22.02	12.38b*	21.67	14.63b*	17.47	30.79c*
M3(D)	28.67	21.27	21.70b	20.60	21.30b	13.55	49.61b
M19(H)	32.54	10.12	66.26a	0	100a	0	100a

*Sütunlarda Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$). D: Dayanıklı H: Duyarlı.

Pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerini içeren fungusit ile yapılan çalışma için EC_{50} değerleri en yüksek olan *B. cinerea*'nın M2 ve M3 izolatları ve en düşük olan M19 izolatu kullanılmıştır (Çizelge 3.7). Fungisit uygulanmamış marul yapraklarında her izolatin meydana getirmiş olduğu lezyon büyüklüğü fungisidin farklı dozlarının uygulandığı

yapraklardaki lezyon büyüklükleri ile karşılaştırılmıştır (Şekil 3.8). Fungisidin ruhsat dozu olan 100 ml/da dozun uygulandığı yapraklarda M2 ve M3 nolu izolatlar kontrole yakın büyüklükte lezyon oluşturmuşlardır. Bu lezyonlar kontrol ile karşılaştırıldığında fungisidin bu dozu M2 izolatına karşı %17.47 oranında M3 izolatına karşı %40.61 oranında etki elde etmiştir. Başka bir deyişle izolatlar fungisidin ruhsat dozunda bile gelişmeye devam etmiş ve yapraklarda lezyon meydana getirmiştir. Düzce'den elde edilen duyarlılık azalışının oluşmadığını düşündüğümüz ve en düşük EC₅₀ değerlerine sahip M19 izolatında ise fungisidin 100 ml/da ve 66.66 ml/da dozunda marul yapraklarında herhangi bir lezyon oluşumu görülmemiştir. Yani fungisidin bu iki dozu izolatın gelişimini tamamen engellemiştir. Bu sonuçlar *in vitro* koşullarda belirlenmiş olan bazı *B. cinerea* izolatlarının pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerini içeren fungiside karşı dayanıklılık kazanmaya başladığını desteklemektedir.



Şekil 3.8. Pyrimethanyl+fluopyram ile yapılan koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri.

Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren fungusit ile yapılan çalışmada ise bu funguside karşı EC₅₀ değerleri en yüksek olan *B. cinerea*'nın M2 ve M8 izolatları ve EC₅₀ değeri en düşük olan M19 izolatı kullanılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında fungusidin farklı dozlarının uygulandığı marul yapraklarında M2 izolatının meydana getirdiği lezyon büyüklüklerinin kontrole yakın olduğu görülmüştür (Çizelge 3.8, Şekil 3.9). En yüksek EC₅₀ değerlerinden birine sahip olan M8 nolu izolat fungusidin her dozunda da kontrole yakın büyüklükte lezyonlar meydana getirmiştir. Fungisitın tüm dozları *B. cinerea*'nın M8 nolu izolatına karşı etki göstermemiştir. Bu funguside karşı EC₅₀ değeri en düşük olan M19 izolatının fungusidin 50 ml/da ve 100 ml/da dozlarında meydana getirmiş olduğu lezyon büyüklükleri kontrol ile karşılaştırıldığında lezyon büyüklüklerinin oldukça küçük olduğu görülmüştür. Fungisitın belirtilen bu dozlardaki etkisi ise sırasıyla %92.33 ve %93.7 olmuştur. Fungisitın ruhsat dozu olan 150ml/da uygulamasında ise hiç lezyon oluşmamıştır. Fungisit bu dozu M19 izolatının gelişimini tamamen durdurmuştur.

Çizelge 3.8. Koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri ve Boscalid+Pyraclostrobin aktif maddelerini içeren fungusidin etkileri.

İzolatlar	Kullanılan dozlar						
	Kontrol	50 ml/da		100 ml/da		150 ml/da	
	Lezyon büyüklüğü (mm)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)
M2(D)	25.38	24.27	3.91c*	23.95	4.94*b	23.56	6.74c*
M8(D)	27.81	22.19	20.13b	20.77	24.82b	23.47	23.94b
M19(H)	32.54	3.45	92.33a	1.47	93.70a	0	100a

*Sütunlarda Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır (P ≥ 0.05). D:Dayanıklı H:Duyarlı.

Fluxapyroxad + difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusit ile yapılan çalışmada diğer çalışmada ise bu funguside karşı EC₅₀ değerleri en yüksek olan M8 ve M15 izolatları ve Düzceden elde edilen ve en düşük EC₅₀ değeri olan M18 izolatı kullanılmıştır (Çizelge 3.9).



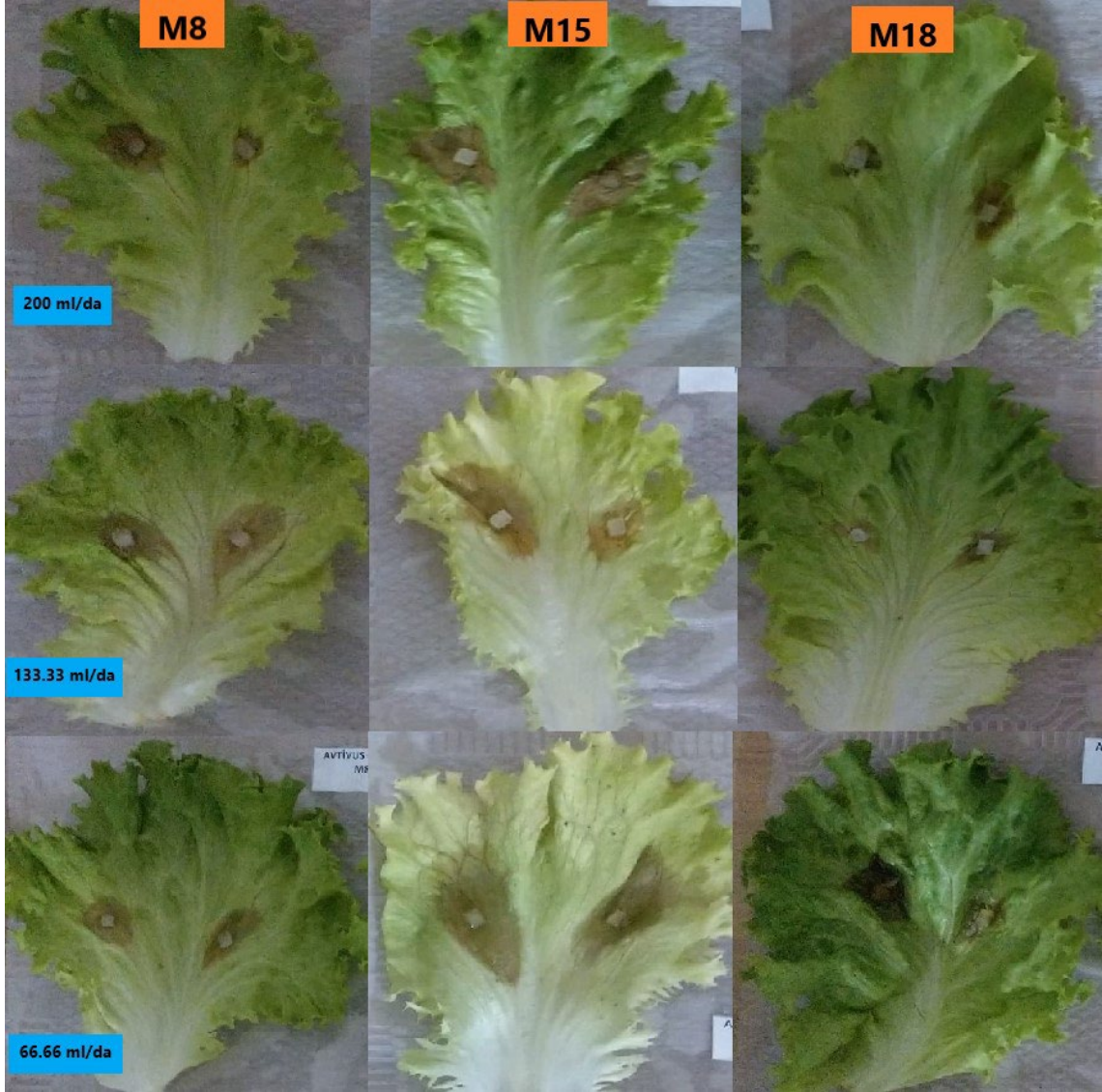
Şekil 3.9. Boscalid+pyraclostrobin ile yapılan koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri.

Çizelge 3.9. Koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri ve Fluxapyroxad + Difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusidin etkileri.

İzolatlar	Kullanılan dozlar						
	Kontrol	66.66 ml/da		133.33ml/da		200ml/da	
	Lezyon büyüklüğü (mm)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)	Lezyon büyüklüğü (mm)	Etki (%)
M8(D)	27.81	24.06	12.93b*	20.99	23.66b*	20.94	24.13b*
M15(D)	43.29	35.91	16.50ab	29.55	31.60ab	29.45	31.85b
M18(H)	43.80	26	40.26a	22.43	49.29a	15.58	64.52a

*Sütunlarda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar bulunmaktadır ($P \geq 0.05$). D:Dayanıklı H:Duyarlı.

Fluxapyroxad + difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusit ile yapılan çalışmada *B. cinerea*'nin M8 ve M15 nolu izolatları 66.66 ml/da, 133.33 ml/da ve 200 ml/da dozlarında marul yapraklarında kontrole yakın büyüklükte belirti oluşturmuştur (Şekil 3.10). Fungisidin bu iki izolata karşı etkisi 200 ml/da dozda sırasıyla %24.13 ve %31.85 olarak belirlenmiştir. Duyarlı olarak düşündüğümüz M18 izolatına karşı ise 200 ml/da dozunda %64.52 oranında etki belirlenmiştir.



Şekil 3.10. Fluxapyroxad+difenoconazole ile yapılan koparılmış yaprak denemesinde izolatların lezyon büyüklükleri.

3.2. TARTIŞMA

Botrytis cinerea dünya çapında 200'den fazla mahsul türünde ciddi kayıplara neden olmaktadır. Konukçularının olgun veya yaşlanmış dokuları en fazla zararın olduğu yerlerdir. Ancak bu tür dokulara genellikle bitkinin gelişim döneminde çok daha erken bir aşamada girer ve uzun bir süre hareketsiz kalır. Çevre şartları etmen için uygun olduğunda ve konukçu fizyolojisi değiştiğinde hızla dokuları çürütür. Bu nedenle, görünüşte sağlıklı görünen bu ürünlerin taşınması, pazarlanması veya depolanması sırasında ciddi zararlara neden olabilmektedir (Williamson, Tudzynski, Tudzynski & Van Kan, 2007).

Botrytis cinerea etmeninin konukçularından biri de maruldur. Özellikle örtü altında yetiştirilen marullarda yetiştirildiği bölgeye bağlı olmakla beraber serin ve nemli iklim koşullarında daha çok görülmektedir (Shin, Kim & Jung, 1991). Etmen yaşlı marul yapraklarını ve bitkinin özellikle toprakla temas ettiği yaralanmış kök boğazını enfekte eder (Cho vd. 1997). Enfeksiyon bölgeleri başlangıçta suda haşlanmış gibi görünür. Zaman ilerledikçe lezyon rengi kahverengiden griye kadar değişir. Hastalık yapraklardan gövdeye yayılabilir ve gövde hızla yumuşayarak çürür. Zamanla lekelerin üzerinde etmenin renkli miselleri gelişebilir (Shim, Kim, Kim & Jee, 2014).

Tez çalışması için *Botrytis cinerea* izolatlarını elde etmek amacıyla marul örneklerini aldığımız bölge Bilecik ili Söğüt ilçesinde bulunmaktadır. Sakarya nehri kenarında yapılan örtü altı yetiştiriciliği yaz döneminde domates ve salatalık, kış döneminde ise marul üretiminden oluşmaktadır. Kış döneminde yapılan marul üretimi nedeniyle serin ve nemli iklim koşulları *Botrytis cinerea* etmeni için uygun ortam oluşturmaktadır. Bu nedenle her yıl hemen hemen her serada kurşuni küf hastalığı görülebilmektedir. Örneklem amacıyla seralar gezilirken yukarıda bahsedilen hastalık belirtilerini taşıyan marul bitkileri ile hemen hemen her serada karşılaşmıştır. Benzer iklim koşullarında marulda görülebilen bir diğer hastalık etmeni de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, olan beyaz çürüklük hastalığıdır. Üreticiler bu hastalıkla mücadelede ruhsatlı olan fungusitleri kullanmaktadırlar. Ancak marulda kurşuni küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea* etmenine karşı bir biyolojik preparatın dışında herhangi bir fungusit ruhsatlı değildir. Üreticiler marulda beyaz çürüklüğe ruhsatlı olan bazı fungusitleri aynı zamanda kurşuni küf hastalığı için de kullanmaktadırlar. Bu nedenle fluopyram+pyrimethanil, boscalid+pyraclostrobin ve fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren

fungisitler bu tez çalışmasında kullanılmıştır.

Botrytis cinerea etmeninin çok sayıda konukçusu bulunmaktadır ve bu konukçularda farklı oranlarda hastalık oluşturabilmektedir. Yürütülen bir çalışmada üzüm, marul ve çilekten izole edilen 30 adet *Botrytis cinerea* izolatu ile koparılmış marul yaprakları üzerinde patojenisite testi yapılmıştır. Üzümden elde edilen isolatlar marul yaprakları üzerinde 2-12.25 mm büyüklüğünde lezyon oluştururken çilekten elde edilen isolatlar 2.12-12.75 mm arası büyüklükte lezyon meydana getirmişlerdir. Maruldan elde edilen isolatlar ile koparılmış marul yapraklarında yapılan patojenisite testinde isolatlar 0.25-16.5 arasındaki büyüklükte lezyon meydana getirmiştir. Marulda elde edilen isolatların marul yapraklarındaki virülensliklerinin diğer isolatlara göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (Abdel Wahab, 2015). Tez çalışmamızda marul bitkilerinden 20 adet izolat elde edilmiş ve bunların patojenisiteleri koparılmış marul yapraklarında yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda isolatlar marul yapraklarında 14.9-39.7 mm büyüklüğünde lezyon oluşturmuşlardır. Bu sonuçlar tez çalışmasında kullandığımız isolatların oldukça virulent olduğunu kanıtlamaktadır.

Farklı dönemlerde yapılan çalışmalarda *Botrytis cinerea* etmeni miselyal gelişme, spor ve sklerot oluşturma özellikleri dikkate alınarak koloni morfolojisi yönüyle sekiz gruba (misel oluşturanlar M1, M2, M3, M4, sklerot oluşturanlar S1, S2, S3, S4) ayrılmıştır (Martinez vd., 2003). Yürütülen bir çalışmada da *Botrytis cinerea* etmene ait isolatların koloni morfolojilerinin dağılımının örnekleme yapılan yıla ve aylara göre farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (Hegy-Kalo, Holb, Lengyel, Juhasz & Vaczy, 2019). Sırbistan'da yapılan bir çalışmada ise farklı bölgelerden ahududu bitkisinden toplanan isolatların yaklaşık %81.5'nin koloni morfolojisinin sklerot tipte olduğu belirlenmiştir (Tanovic, Hrustic, Mihajlovic, Grahovac & Delibasic, 2014). Tez çalışmamızda da bezer bir durum söz konusudur. Toplanan 20 adet *Botrytis cinerea* izolatu koloni morfolojileri yönüyle değerlendirildiğinde 16 adet (%80) izolatu sklerot oluşturduğu belirlenmiştir.

Botrytis cinerea kısa yaşam çemberi ve yüksek üreme gücü sayesinde fungusitlere karşı dayanıklılık kazanma riski yüksek olan patojenlerin başında gelmektedir (Grimmer, Vanden Bosch, Powers & Pavely, 2015; FRAC, 2022). Yapılan bazı çalışmalarda *Botrytis cinerea* etmeninin methyl benzimidazole carbamate (MBC) bileşiklerinden (benomyl ve thiophanate-methyl), anilinopyrimidin (AP) bileşiklerinden (cyprodinil ve pyrimethanil), phenylpyrrole bileşiklerinden (fludioxonil), quinone-outside inhibitör (QoI) bileşiklerinden (fenhexamid, boscalid, fludioxonil), QoI ve succinate dehydrogenase

inhibitör (SDHI) bileşiklerinin karışımı (boscalid+pyraclostrobin), demethylation inhibitör (DMI) bileşiklerinden (tebuconazole) gibi aktif maddelere karşı dayanıklılık kazandığı belirlenmiştir (Wang, Coley-Smith & Wareing, 1986; Yourman & Jeffers 1999; Moyano, Gomez, & Melgarejo, 2004; Myresiotis, Karaoglanidis & Tzavella-Klonari, 2007; Filiinger vd., 2008; Leroux, Gredt, Leroch & Walker, 2010; Weber 2010, 2011; Leroch, Kretschmer & Hahn, 2011; Gül, Karataş & Karakaya, 2021; Zhang, Li, Xiao, Zhou & Liu, 2020; Weber ve Hahn, 2019). Bu bileşikler tek etki mekanizmasına sahiptir ve tek yer engelleyiciler olarak bilinmektedir.

Fluopyram+pyrimethanil aktif maddelerini içeren fungusitte fluopyram aktif maddesi succinate dehydrogenase inhibitor'ler (SDHI) grubunda pyrimethanil aktif maddesi ise aniloprimidine'ler (AP) grubunda yer almaktadır. SDHI grubunda yer alan aktifler solunum zincirinin süksinat dehidrojenaz kompleksine (kompleks II) bağlanır ve hücresel solunumu bozar (Delen, 2016). AP'nin etki mekanizması patojenlerin methionin ve diğer aminoasitlerin biyosentezini inhibe etmesi ve inseksiyon sırasında ihtiyaç duyulan ve hücre duvarını parçalayan hydrolytic enzimlerin salgılanmasını inhibe etmesidir (Delen, 2016). Fungisit direnç eylem komitesi (FRAC) SDHI ve AP kimyasal grupları içerisinde bulunan aktif maddelerine karşı direnç oluşumunu önleyebilmek amacıyla bir sezonda en fazla üç uygulama yapılmasını önermektedir (FRAC, 2022). Tez çalışmasının yürütüldüğü bölgede bu aktif maddelerin sezonda 5-6 kez kullanıldığı belirlenmiştir. Tez çalışmamızdaki sonuçlar EC_{50} değerleri yönüyle değerlendirildiğinde fluopyram+pyrimethanil aktif maddelerini içeren funguside karşı 4 izolatın EC_{50} değerinin 0.3-1 μ g/ml arasında olduğu diğer izolatların bu değer üzerinde olduğu belirlenmiştir. EC_{50} değeri 1-10 μ g/ml arasında 7 adet 10-100 μ g/ml arasında 5 adet izolat olduğu saptanmıştır. Örtüaltı yetiştiriciliğinde sorun olan kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea*'nin bazı fungusitlere olan duyarlılık düzeylerinin belirlenmesine yönelik yürütülen çalışmada 41 izolatın ED_{50} değerleri 1-3 μ g/ml doz aralığında 4 izolatın da 3-10 μ g/ml aralığında olduğu belirlenmiş ve izolatların dayanıklı mutant olma özelliği taşıdığı düşünülüyor ifade edilmiştir (Aghdam, 2017). Bu sonuçlar elde etmiş olduğumuz sonuçlar ile karşılaştırıldığında çalışmamızın yürütüldüğü marul yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgede *Botrytis cinerea* popülasyonu arasında dayanıklı bireylerin oranının artmaya başladığı savımızı güçlendirmektedir.

Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren fungusitte boscalid aktif maddesi succinate dehydrogenase inhibitor'ler (SDHI) grubunda pyraclostrobin aktif maddesi ise

quinone-outside inhibitör (QoI) grubunda yer almaktadır. SDHI grubunda yer alan Boscalid succinate dehydrogenase complex'ı diye bilinen succinate ubiquinone reductase enzimini etkileyerek etkili olmaktadır. (Delen, 2016). QoI'nin etki mekanizması mitokondrial membranın iç kısmındaki cytochrome *bc₁* kompleksinde cytochrome *b*'ye bağlanarak electron taşımını ve sonuçta da mitochondrial solunumu engellemesidir (Delen, 2016). Yürütmüş olduğumuz tez çalışmasında *Botrytis cinerea* izolatlarının bu funguside karşı EC₅₀ değerinin 5 izolatta 0.03-1µg/ml arasında, 3 izolatta 1-10 µg/ml arasında ve 8 izolatta 10-100µg/ml arasında olduğu belirlenmiştir. Örtüaltı yetiştiriciliği yapılan bitkilerden izole edilen *Botrytis cinerea*'nin bazı fungusitlere olan duyarlılık düzeylerinin belirlenmesine yönelik yürütülen çalışmada boscalid+pyraclostrobin karışımına karşı 43 izolatın ED₅₀ değerleri 1-3 µg/ml doz aralığında, 13 izolatın da 3-10 µg/ml aralığında olduğu belirlenmiştir (Aghdam, 2017). İspanyada yürütülen bir çalışmada domates seralarından izole edilen *Botrytis cinerea* izolatlarının boscaid + pyraclostrobin karışımına karşı EC₅₀ değerlerinin 0.01 -0.5 µg/ml doz aralığında olduğu ve izolatların yaklaşık %60'nın EC₅₀ değeri 0.05 -0.1 µg/ml aralığında olduğu saptanmıştır (Rodrigeuz, Acosta & Rodriugez, 2014). Çilekte kurşuni küf hastalığının mücadelesine yönelik boscalid+pyraclostrobin karışımı ile ilgili yapılan çalışmada iki farklı *Botrytis cinerea* izolatının ED₅₀ değerleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bir izolatın ED₅₀ değeri 1.3 µg/ml, diğer izolatın ED₅₀ değeri ise >30 µg/ml olarak belirlenmiştir (Elmacı, 2020). Türkiye'de domates seralarında kurşuni küf (*Botrytis cinerea*) hastalığının boscalid ve pyraclostrobin'e karşı fungusit dayanıklılığının değerlendirilmesine yönelik yürütülen çalışmada boscalid+pyraclostrobin karışımına dayanıklı izolatların EC₅₀ değerlerinin 12-49 µg/ml aralığında olduğu belirlenmiştir (Gül, Karataş & Karakaya, 2021) . İlk iki çalışmada elde edilen sonuçlara göre tez çalışmasında elde etmiş olduğumuz ED₅₀ değerlerinin yüksek olduğu görülmektedir. Ancak son çalışmada elde edilen sonuçlar bizim sonuçlarımız ile paralellik göstermektedir.

Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren fungusitte fluxapyroxad aktif maddesi succinate dehydrogenase inhibitor'ler (SDHI) grubunda, difenoconazole aktif maddesi ise demethylation inhibitör (DMI) grubunda yer almaktadır. SDHI grubunda yer alan fluxapyroxad aktif maddesi fungusların misel gelişimini, çim tüpünün gelişmesini, spor cimlenmesini ve appressorium oluşumunu engellemektedir (Yang vd. 2019). DMI'ler ergosterol biyosentezi üzerine etkilidir. Bu etki DMI'lerin bünyesinde bulunan azot cytochrome P450'nin porphyrin atomuna bağlanarak 14-pozisyonundaki methyl'in

çekilmesini engelleme şeklindedir (Delen, 2016). Çalışmamızda *Botrytis cinerea* izolatlarının bu funguside karşı 6 adet izolatin EC₅₀ değerinin 0.3-1 µg/ml arasında, 8 adet izolatin EC₅₀ değerinin 1-10 µg/ml arasında ve 1 adet izolatin 10-100µg/ml arasında olduğu saptanmıştır. Çin’de yapılan bir çalışmada fluxapyroxad aktif maddesi içeren fungusitin kullanıldığı domates bitkilerinden 96 adet *Botrytis cinerea* izolatu elde edilmiştir. Çalışma sonucunda bu aktif maddeye hassas olan izolatların EC₅₀ değerinin 0.2014-0.2505 µg/ml arasında, dayanıklı izolatların EC₅₀ değerinin ise 5.2472-38.5692 µg/ml arasında olduğu belirlenmiştir (Liu, Wen, Ma & Shao, 2022). İspanya’da çilek tarlalarında izole edilen *Botrytis cinerea* izolatlarının fluxapyroxad aktif maddesine karşı EC₅₀ değerleri belirlenmiştir. İzolatlar EC₅₀ değerleri <0.01-0.06 µg/ml arasında olanlar çok hassas, 0.11-0.55 µg/ml arasında olanlar hassas ve 1.92-2.06 µg/ml arasında olanlarda dayanıklı olarak sınıflandırılmıştır (Fernández-Ortuño, vd., 2017). Tez çalışmasında belirlemiş olduğumuz EC₅₀ değerleri bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında içerisinde fluxapyroxad aktif maddesi bulunan funguside karşı *Botrytis cinerea* izolatlarının dayanıklılık kazanmaya başladığı düşünülmektedir.

Botrytis cinerea izolatlarının misel gelişim hızlarının belirlenmesi amacıyla yapılan denemede 11 adet izolatin 4 günde gelişimlerinin tamamlayarak tüm petriyi kapladığı belirlenmiştir. Bu izolatlar arasında EC₅₀ değeri yüksek olan izolatlar da bulunmaktadır. Örneğin EC₅₀ değerleri hem fluopyram+pyrimethanil hem de boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerine karşı yüksek olan M2 ve M3 izolatlarının misel gelişimlerinin hızlı olduğu belirlenmiştir. Ancak bu izolatların spor verimlerine bakıldığında tüm izolatlar arasında en düşük spor verimi M2 nolu izolata aittir. M3 nolu izolat ise spor verimi yönüyle ortalarda yer almaktadır. Hem misel gelişimi hızlı hem de spor verimi yüksek olan izolatlarda (M4, M6, M10, M12, M13) mevcuttur. Bu izolatların EC₅₀ değerleri fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerine karşı düşük olmasına rağmen hem fluopyram+pyrimethanil hem de boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerine karşı yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum eğer dayanıklılık yönetimi ile ilgili gerekli önlemler alınmadığı takdirde ileride *Botrytis cinerea* popülasyonu içerisinde dayanıklı bireylerin sayısının giderek artma olasılığını güçlendirmektedir.

Fungisitlerin etkinliğinin denendiği koparılmış yaprak denemelerinde fungusitlerin *Sclerotinia sclerotium* etmeninin neden olduğu marulda beyaz çürüklük hastalığına karşı ruhsatlı olan dozu ve ruhsat dozunun 2/3’ü ve 1/3’ü kullanılmıştır. Pyrimethanil+fluopyram aktif maddelerini içeren funguside karşı dayanıklılık

kazandığını düşündüğümüz M2 ve M3 nolu izolatlar yapraklarda kontrole yakın lezyon oluşturmuştur. Bu izolatlar en yüksek doz olan 100ml/da dozunda dahi yapraklarda lezyon oluşturmuştur. Duyarlı olduğunu belirlediğimiz M19 izolatı ise fungusidin 2/3 oranındaki (66.66 ml/da) dozunda bile herhangi bir belirti oluşturamamıştır. İzolatın gelişimi tamamen engellenmiştir. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren funguside karşı dayanıklılık kazandığını düşündüğümüz M8 ve M2 nolu izolatlar da yapraklarda kontrole yakın lezyon oluşturmuştur. Duyarlı olduğunu belirlediğimiz M19 izolatı ruhsat dozunda herhangi bir belirti oluşturamamıştır. Diğer dozlarda ise kontrole göre çok az belirti oluşturmuştur. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren funguside karşı dayanıklılık kazandığını düşündüğümüz M8 ve M15 nolu izolatlar yapraklarda her üç dozda da kontrole yakın lezyon oluşturmuştur. Ancak duyarlı olduğunu belirlediğimiz M18 izolatı kontrol ile karşılaştırdığımızda ruhsat dozunda orta büyüklükte belirti oluşturmuştur.

Bu tez çalışması sonucunda marul yetiştiriciliğinde sorun olan *Botrytis cinerea* etmenin üreticilerin kullanmış olduğu bazı fungusitlere karşı duyarlılık azalışının oluşmaya başladığı hem *in vitro* koşullarda yapılan çalışmalarda belirlenen EC₅₀ değerleri ile hem de koparılmış yaprak denemelerinde ortaya konmuştur.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Botrytis cinerea marul üretiminde ürün kayıplarına neden olan etmenler arasında yer almaktadır. Son yıllarda tek yer engelleyici fungusitlerin üreticiler tarafından sıklıkla kullanılması sonucu patojenlerin bu fungusitlere karşı duyarlılıklarında azalmalar meydana gelmeye başlamıştır. Bu patojenlerin en önemlilerinden birisi de *Botrytis cinerea*'dır.

Yürütmüş olduğumuz bu tez çalışmasında Bilecik ili, Söğüt ilçesinde bulunan sera bölgesinden *Botrytis cinerea* izolatları elde edilmiştir. Bu bölgede üreticiler bir yıl içerisinde bu etmene karşı 5-6 kez bu fungusitleri kullanmaktadır. Doğal duyarlı olduğunu düşündüğümüz Düzce ilinden elde edilen izolatlar ise bu aktif maddelerde dahil olmak üzere hiç fungusit kullanılmamış bölgelerden elde edilmiştir.

İzolatların morfolojik karakterlerine göre yapılan grupta 4 adet izolatın miselyal karakterde (M2, M3, M6 ve M20) olduğu 16 izolatın ise sklerot karakterde olduğu belirlenmiştir. Sklerot karakterde olan izolatlardan 1 adedi S1, 5 adedi S2, 6 adedi S3 ve 4 adedi S4 grubunda yer almıştır.

Duyarlılık azalışını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar EC_{50} değerleri yönüyle değerlendirildiğinde pyrimethanyl+fluopyram aktif maddelerine karşı özellikle M2, M3, M7, M8, M12, M13 ve M14 izolatlarının bu funguside karşı önemli ölçüde dayanıklılık kazandığı ortaya konmuştur. Özellikle 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda bile M2, M8, M13 ve M14 nolu izolatların misel gelişimleri devam etmiştir. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerini içeren funguside karşı *B. cinerea*'nın M1, M2, M3, M6, M8, M10, M13 ve M14 nolu izolatları funguside karşı önemli ölçüde dayanıklılık kazanmıştır. Bu izolatların EC_{50} değerleri 11.336-51.025 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişmektedir. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerini içeren funguside karşı *B. cinerea* izolatlarının EC_{50} değerleri ($\mu\text{g/ml}$) diğer iki funguside göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu funguside karşı en yüksek EC_{50} değeri 11.154 $\mu\text{g/ml}$ olan M8 izolatıdır. Bu izolatın EC_{50} değerinin diğer iki funguside karşı da yüksek olduğu görülmektedir.

İzolatların misel gelişim hızları ve spor verimleri yönüyle yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar arasında net bir ilişki olmamasına rağmen hem misel gelişimi hızlı hem de spor verimi yüksek olan izolatlarda (M4, M6, M10, M12, M13) mevcuttur. Bu

izolatların EC₅₀ deęerleri fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerine karřı dūřuk olmasına raęmen hem fluopyram+pyrimethanil hem de boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerine karřı yūksek olduęu gōrūlmektedir.

İn vitro koşullarda pyrimethanyl+fluopyram, boscalid+pyraclostrobin ve fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerine karşı duyarlılık azalışının tespit edildiği izolatlara karşı yapılan koparılmış yaprak denemelerinde de etki alınamamıştır.

Bu izolatlar yapraklarda kontrole yakın lezyonlar oluşturmuştur. Bu sonuçlar *in vitro* koşullarda elde edilen sonuçları desteklemiştir.

Tez ęalıřması sonucunda tarımsal ūretimin yoğun bir şekilde yapıldığı Sōęūt ilęesindeki sera bōlgesinde *Botrytis cinerea* popūlasyonu iğerisinde yer alan bazı izolatların seğmiş olduğumuz fungusitlere karşı duyarlılıklarının azalmaya başladığı anlaşılmıştır. Duyarlılık azalışının ūnūne geğebilmek amacıyla dayanıklılık yōnetimi ile ilgili gerekli ūnlemlerin alınması yararlı olacaktır.

İleride duyarlılık azalışının nedenlerinin ve mekanizmasının ağıklanması ile ilgili ęalıřmaların yapılmasında yarar bulunmaktadır. Bu ęalıřmalarda elde edilecek sonuçlar daha etkili dayanıklılık yōnetim sistemi oluşturulmasında faydalı olacaktır.

5. KAYNAKLAR

- Abdel Wahab, H. (2015). Characterization of Egyptian *Botrytis cinerea* isolates from different host plants. *Advances in Microbiology*, 5, 177-189.
- Aghdam, A. M. (2017). 'Örtü altı yetiştiriciliğinde kurşuni küf hastalığı etmeni *Botrytis cinerea* Fr. izolatlarının moleküler yöntemlerle genetik ve fenotipik akrabalıkları ile fungusitlere olan duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi', Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Agrios, N.G. (2005). *Plant Pathology* Fifth Edition. University of Florida Elsevier Academic Press.
- Anonim, (2022). Fungisit Direnç Eylem Komitesi (FRAC) veritabanı. Erişim: 4 Kasım 2022, <<https://www.frac.info/>>.
- Anonim, (2022). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) veritabanı. Erişim: 4 Kasım 2022, <<https://www.fao.org/faostat/en/#data>>.
- Anonim, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) veritabanı. Erişim: 4 Kasım 2022, <<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr>>.
- Asadollahi, M. (2013). Genetic diversity of *Botrytis cinerea* and its relevance in the development of fungicide resistance. PhD Thesis, University of Debrecen, Hungary.
- Baraffio, C.A., Siegfried, W. & Hilber, U.W. (2003). Long-term monitoring for resistance of *B. cinerea* to anilopyrimidine, phenylpyrrole and hydroxylanilide Fungicides in Switzerland. *Plant Disease*, 87, 662-666.
- Baykal, N. (1997). *Sebze Fungal Hastalıkları*. Bursa, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Ders Kitapları.
- Chatzidimopoulos, M., Papaevaggelou, D. & Pappas, A.C. (2013). Detection and characterization of fungicide resistant phenotypes of *Botrytis cinerea* in lettuce crops in Greece. *European Journal of Plant Pathology*, 137, 363-376.
- Cho, W. D., Kim, W. G., Jee, H. J., Choi, H. S., Lee, S. D. & Choi, Y. C. (1997). *Compendium of vegetable diseases with color plates*. Suwon, Korea, NIAST.
- Dean, R., Kan Van., J., Pretorius, Z.A., Kosack, K., Pietro, A., Spann, P., Rudd, J.J., Dicman, M., Kahmann, R., Eliss, J. & Foster, G. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 13(4), 414-430.
- Dekker, J. (1982). Countermeasures for Avoiding Fungicide Resistance. İçinde *Fungicide Resistance in Crop Protection* (ss.177-178). Wageningen: Center for Agricultural Publishing and Documentation.
- Delen, N. (2016). *Fungisitler*. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic.Ltd.Şti.
- Delen, N., Yıldız, M. & Manaite, H. (1984). Benzimidazole and dithiocarbamate resistance of *Botrytis cinerea* on greenhouse crops in Turkey. *Meddelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, 49(2),153-161.
- Delen N, Koplay C, Yıldız M, Güngör N, Kınay P, Yıldız F. & Çoşkuntuna A (2004).

- Sensitivity in *Botrytis cinerea* isolates to some fungicides with specific modes of action. İçinde *XIII. International Botrytis Symposium* (ss.6-35).
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. & Burçak, A. (2005) Pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. *Türkiye Zir. Müh. VI. Teknik Kongresi*, (ss.2-21).
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P. & Delen, N. (2007). *Botrytis* spp. and diseases they cause in agricultural systems-an introduction. İçinde *Botrytis: Biology, Pathology Con.* (ss.1-8). Singapore: Springer International Publishing.
- Elad, Y., Vivier, M., & Fillinger, S. (2016). Botrytis, the Good, the Bad and the Ugly. İçinde *Botrytis the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems.* (ss.1-15). Singapore: Springer International Publishing.
- Elmacı, A. (2020). ‘Çileklerde hasat sonrası *Botrytis cinerea* fr. meyve çürüklüklerinin hasat öncesi maya ve fungusit uygulamaları ile önlenmesi üzerine araştırmalar’, Doktora tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Eşiyok, D. (2012). *Kışlık ve Yazlık sebze yetiştiriciliği*. İzmir: Sidas Yayınları.
- Fernández-Ortuño, D., Pérez-García, A., Chamorro, M., de la Peña, M., de Vicente, A., & Antonio Torés, J. (2017). Resistance to the SDHI fungicides boscalid, fluopyram, fluxapyroxad, and penthiopyrad in *Botrytis cinerea* from commercial strawberry fields in Spain. *Plant Disease*, 101(7), 1306-1313.
- Fillinger, S., Leroux, P., Auclair, C., Barreau, C., al Hajj, C. & Debieu, D. (2008). Genetic analysis of fenhexamid-resistant field isolates of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Antimicrob Agents Chemother*, 52, 3933-3940.
- Gül, E., Karataş, Z., Karakaya, A. (2021). Evaluation of the fungicide resistance of gray mold (*Botrytis cinerea*) in tomatoes to boscalid and pyraclostrobin in greenhouse areas of Turkey. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science*, 31(2), 487-493.
- Grimmer, M.K, Van den Bosch, F., Powers, S.J. & Paveley, N.D. (2015). Fungicide resistance risk assessment based on traits associated with the rate of pathogen evolution. *Pest Management Science*, 71,207-215.
- Hegyi-Kalo, J., Holb, I.J, Lengyel, S., Juhasz, A. & Vaczy, K.Z. (2019). Effect of year, sampling month and grape cultivar on noble rot incidence, mycelial growth rate and morphological type of *Botrytis cinerea* during noble rot development. *European Journal of Plant Pathology*, 155, 339-348.
- Kennedy, R., & Collier, R. (2000). Pest and diseases of field vegetables İçinde *Pest and disease management handbook*.(ss.230-231). Wellesbourne, Warwickshire: Horticultural Research International.
- Kim, M.J., Moon Y., Tou J.C., Mou B., & Waterland, N.L. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 19-34.
- Koplay, C. (2004). ‘Sofralık sultani üzümde fungal kaynaklı çürüklük patojenlerinin saptanması ve in vitro koşullarda etkili fungisidlerle önlenmesi üzerinde incelemeler’, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Köycü, D.N. (2007). ‘Bağlarda kurşuni küf hastalığı etmeni (*B. cinerea* Pers. Ex. Fr.)’nin

kullanılan fungusitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi ve kimyasal mücadelesi üzerine araştırmalar’, Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.

- Latorre, B. A., Spadaro, I. & Riojaba, M. E. (2002). Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides in table grapes in Chile. *Crop Protection*, 21, 957-961.
- Leroux, P., Gredt, M., Leroch, M., & Walker, A.S. (2010). Exploring Mechanisms of Resistance to Respiratory Inhibitors in Field Strains of *Botrytis cinerea*, the Causal Agent of Gray Mold. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(19), 6615–6630.
- Leroch, M., Kretschmer, M. & Hahn, M. (2011). Fungicide resistance phenotypes of *Botrytis cinerea* isolates from commercial vineyards in South West Germany. *Journal Phytopathology*, 159, 63-65.
- Liu, K., Wen, Z., Ma, Z. & Shao, W. (2022). Biological and molecular characterizations of fluxapyroxad-resistant isolates of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology Research*, 4(2), 1-11.
- Martinez, F., Blancard, D., Lecomte, P., Levis, C., Dubos, B., & Fermaud, M. (2003). Phenotypic differences between *vacuina* and *transposa* subpopulations of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 479-488.
- Moyano, C., Gómez, V. & Melgarejo, P., (2004). Resistance to pyrimethanil and other fungicides in *Botrytis cinerea* populations collected on vegetable crops in Spain. *Journal Phytopathology*, 152, 484-486.
- Myresiotis, C.K., Karaoglanidis, G.S. & Tzavella-Klonari, K. (2007). Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxylanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. *Plant Disease*, 91, 407-413.
- Nemli, T. (1979). Bazı fungusidlerin *Verticillium dahliae* Kleb. ve *Botrytis cinerea* Pers.’nin domates izolatlarına etkileri üzerinde araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(2), 175-184.
- Ogilvie, L. (1949). Diseases of Vegetables. *Ministry of Agriculture and Fisheries Bulletin*, (123), 26-29.
- Pokorny, A., Smilanick, J., Xiao, C.L., Farrar, J.J. & Shrestha, A. (2016). Determination of fungicide resistance in *Botrytis cinerea* from strawnerry in the central coast region of California. *Plant Health Progress*, 17(1), 30-34.
- Rodriguez, A., Acosta, A. & Rodriguez, C. (2014). Fungicide resistance of *Botrytis cinerea* in tomato greenhouses in the Canary Islands and effectiveness of non-chemical treatments against gray mold. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 2397–2406.
- Rossi, F.R., Gárriz, A., Marina, M., Romero, F.M., Gonzalez M.E., Collado I.G., & Pieckenstein, F.L. (2011). The sesquiterpene botrydial produced by *Botrytis cinerea* induces the hypersensitive response on plant tissues and its action is modulated by salicylic acid and jasmonic acid signaling. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(8), 888-896.
- Rupp, S., Weber, R.W.S., Rieger, D., Detzel, P. & Hahn, M. (2017) Spread of *Botrytis cinerea* Strains with Multiple Fungicide Resistance in German Horticulture. *Frontiers in . Microbiology*. 7, 2075, 1-12.

- Saito, S., Michailides, T.J. & Xiao, C.L. (2019). Fungicide-resistant phenotypes in *Botrytis cinerea* populations and their impact on control of gray mold on stored table grapes in California. *European Journal of Plant Pathology*, 154, 203–213.
- Selvi, A.K. (2015). ‘Ege Bölgesi’nde üzümelerde *Botrytis cinerea* izolatlarının bazı fungusitlere dayanıklılık durumlarının belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu’. Yüksek Lisnas Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Shin, D. B., Kim, D. K. and Jung, Y. T. (1991). Study on the occurrence of lettuce gray mold disease, cultural characteristics and efficiency of chemical control under controlled cultivation conditions in drained paddy field. *Res. Rept. RDA (CP)* 33, 1-5.
- Shim, C.K., Kim, M.J., Kim, Y.K. & Jee, H.J. (2014). Evaluation of Lettuce Germplasm Resistance to Gray Mold Disease for Organic Cultivations. *Plant Pathology Journal*, 30(1),90-95.
- Soylu, S., Serkaya E., Türemiş, İ., Bozkurt İ.A., & Kurt Ş. (2017). Prevalence and incidence of important disease agents, insects and weed species in lettuce (*Lactuca sativa* L.) growing fields in Hatay Province. *Journal of Agricultural Faculty of Mustafa Kemal University*, 22(1), 23-33.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M. & Polat S. (2008). *Özel Sebezecilik Salata-Marul Yetiştiriciliği*. İstanbul, Onur Grafik Matbaa ve Reklam Hizmetleri.
- Tanovic, B., Hrustic, J., Mihajlovic, M., Grahovac, M. & Delibasic, G. (2014). *Botrytis cinerea* in raspberry in Serbia I: Morphological and molecular characterization. *Pesticides and Phytomedicine*, 29(4), 237–247.
- Tanović, B., Delibašić G., Milivojević J., & Nikolić M. (2009). Characterization of *Botrytis cinerea* isolates from small fruits and grapevine in Serbia. *Archives of Biological Sciences*. 61(3). 419-429.
- Topolovec-Pintaric, S. & Cvjetkovic, B. (2001). The sensitivity of *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. to pyrimethanil in Croatia. *Journal of Plant Diseases and Protection* 109 (1), 74-79.
- Vallejo, I., Carbu M., Rebordinos L. & Cantoral J. M. (2003). Virulence of *Botrytis cinerea* strains on two grapevine varieties in south-western Spain. *Biologia*, 58(6),1067-1074.
- Wang, Z.N., Coley-Smith JR & Wareing PW (1986). Dicarboximide resistance in *Botrytis cinerea* in protected lettuce. *Plant Pathology*, 35, 427-433.
- Weber, R.W.S., (2010). Occurrence of Hyd R3 fenhexamid resistance among *Botrytis* isolates in Northern German soft fruit production. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 117, 177-179.
- Weber, R.W.S., (2011). Resistance of *Botrytis cinerea* to multiple fungicides in Northern German small-fruit production. *Plant Diseases*, 95, 1263-1269.
- Weber, R.W.S. & Wichura, A. (2013). Fungicide resistance of *Botrytis cinerea* on lettuce in Northern Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 120(3), 115-121.
- Weber, R.W.S & Hahn, M. (2019). Grey mould disease of strawberry in northern Germany: causal agents, fungicide resistance and management strategies. *Applied Microbiology and Biotechnology* (103),1589–1597.
- Webster, J. & Weber, R.W.S. (2007). *Introduction to Fungi*. Nem York: Cambridge

University Press.

- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P. & Van Kan, J.A.L. (2007). *Botrytis cinerea* : the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580.
- Yang, D., Zhao, B., Fan, Z., Yu, B., Zhang, N., Li, Z., Shu, Y., Zhou, J., Kalinina, T.A. & Glukhareva, T.V. (2019). Synthesis and biological activity of novel succinate dehydrogenase inhibitor derivatives as potent fungicide candidates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(47):13185-13194.
- Yıldız, Z. (1999). ‘Kurşuni küf etmeni *Botrytis cinerea* Pers. ile kimyasal savaşımında diethofencarb yoluyla benzimidazole grubu fungusidlere karşı dayanıklılığın kırılması olanakları üzerinde araştırmalar’, Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- Yiğit, F. & Boyraz, N. (2003). Plastik seralarda bazı önemli domates hastalıklarının (*Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* ve *Phytophthora infestans*)’na karşı ilaçlama programı uygulaması. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(31), 56-61.
- Yourman, L.F. & Jeffers, S.N. (1999). Resistance to benzimidazole and dicarboximide fungicides in greenhouse isolates of *Botrytis cinerea*. *Plant Diseases*, 83, 569-575.
- Zeteroğlu, F. (2012). ‘Sera sebzelerinden elde edilmiş *Botrytis cinerea* izolatlarının anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide ve dicarboximide fungusitlere duyarlılığı’, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Hatay, Türkiye.
- Zhang, C., Li, T., Xiao, L., Zhou, S. & Liu, X. (2020). Characterization of tebuconazole resistance in *Botrytis cinerea* from tomato plants in China. *Phytopathology Research*, 2(25),1-10.
- Zhang, C.Q., Yuan, S.K., Sun, H.Y., Qi, Z.Q., Zhou, M.G. & Zhu, G.N. (2007). Sensitivity of *Botrytis cinerea* from vegetable greenhouses to boscalid. *Plant Pathology*, 56, 646–653.

6. EKLER

6.1. EK1:YÜZDE GELİŞİM ORANLARI

Petrilerde gelişen kolonilerin çapı her biri ölçüm merkezden geçmek koşulu ile birbirine çapraz olacak şekilde iki kez ölçülmüş ve bu iki ölçümün ortalaması alınmıştır. Bu değerler kullanılarak izolatların kontrole göre her konsantrasyon için yüzde gelişim oranları bulunmuştur. Yüzde gelişim oranları her fungusit için ayrı ayrı Çizelge 6.1, 6.2 ve 6.3'te verilmiştir.

Çizelge 6.1. Pyrimethanil+fluopyram aktif maddelerinin farklı konsantrasyonlarında *B. cinerea* izolatlarının yüzde gelişim oranları (%).

<i>B. cinerea</i> izolatları	Fungisit Konsantrasyonu									
	0 µg/ml	0.01 µg/ml	0.03 µg/ml	0.1 µg/ml	0.3 µg/ml	1 µg/ml	3 µg/ml	10 µg/ml	30 µg/ml	100 µg/ml
M1	100	100.06	99.97	99.83	97.39	94.33	68.64	34.92	35.02	0
M2	100	98.71	99.88	99.73	95.95	93.12	88.74	78.97	40.69	36.07
M3	100	98.26	98.96	95.80	97.33	99.48	96.86	91.10	68.28	0
M4	100	89.70	88.43	71.63	18.15	19.07	27.33	30.48	20.86	0
M5	100	87.27	88.73	48.20	72.25	71.47	46.88	15.08	3.74	0
M6	100	99.93	99.59	97.98	97.27	94.81	77.91	44.40	11.36	0
M7	100	97.53	97.51	97.47	97.35	97.19	93.37	66.54	10.06	0
M8	100	98.41	97.57	97.71	97.81	97.55	87.70	70.20	32.85	14.09
M9	100	99.73	99.62	76.61	51.97	40.04	16.34	26.90	4.59	0
M10	100	98.93	96.98	97.24	96.52	90.82	71.87	45.70	27.09	0
M11	100	84.46	75.18	60.26	35.98	79.46	50.13	13.83	0	0
M12	100	99.03	96.68	96.53	96.61	94.99	68.22	62.74	29.90	0
M13	100	99.87	99.73	96.83	96.22	92.35	87.12	65.74	39.09	16.59
M14	100	99.36	99.96	99.75	97.63	90.60	85.12	65.73	41.99	23.60
M15	100	99.21	94.93	95.05	88.91	78.28	73.14	61.08	24.08	0
M16	100	97.96	85.89	85.22	93.60	90.62	30.20	12.43	0	0
M17	100	99.93	99.97	30.98	8.96	33.66	13.41	17.62	0	0
M18	100	97.22	92.02	77.91	61.42	58.06	26.94	28.46	0	0
M19	100	97.79	96.68	27.30	10.64	5.53	3.82	13.62	0	0
M20	100	85.28	89.42	41.58	31.83	19.09	14.51	10.32	0	0

Çizelge 6.2. Boscalid+pyraclostrobin aktif maddelerinin farklı konsantrasyonlarında *B. cinerea* izolatlarının yüzde gelişim oranları (%).

<i>B. cinerea</i> izolatları	Fungisit Konsantrasyonu									
	0 µg/ml	0.01 µg/ml	0.03 µg/ml	0.1 µg/ml	0.3 µg/ml	1 µg/ml	3 µg/ml	10 µg/ml	30 µg/ml	100 µg/ml
M1	100	98.92	97.69	97.88	90.82	82.09	61.56	52.30	50.74	44.29
M2	100	95.45	93.47	91.56	87.54	73.63	61.79	60.50	57.98	48.86
M3	100	98.43	97.84	96.47	93.09	84.50	61.02	51.03	48.00	45.73
M4	100	81.97	59.50	41.94	18.52	3.44	1.52	0	0	0
M5	100	71.24	63.63	48.14	38.25	24.01	16.13	14.34	13.00	0
M6	100	100.08	99.98	95.11	94.23	86.19	65.35	57.52	57.33	27.09
M7	100	96.11	98.95	88.66	79.16	68.34	47.04	44.32	33.04	23.92
M8	100	95.65	97.40	93.57	91.67	82.88	60.93	56.48	56.02	49.93
M9	100	87.72	75.13	60.89	39.40	2.80	2.50	0	0	0
M10	100	94.81	93.51	90.68	88.64	77.33	55.79	48.58	45.94	40.65
M11	100	83.12	66.71	47.03	10.05	0	0	0	0	0
M12	100	90.48	89.00	86.44	87.87	69.88	51.77	39.94	38.26	37.48
M13	100	92.24	88.50	84.49	84.54	77.73	59.75	43.40	38.53	36.47
M14	100	97.96	94.19	88.71	87.74	72.36	53.75	43.72	40.12	38.44
M15	100	70.34	59.48	41.50	23.44	0	0	0	0	0
M16	100	95.90	96.23	95.20	90.06	71.71	42.10	36.91	34.07	30.63
M17	100	69.75	56.66	18.54	13.22	2.60	0	0	0	0
M18	100	72.42	60.94	36.28	6.48	0	0	0	0	0
M19	100	64.17	36.13	10.63	3.91	0	0	0	0	0
M20	100	68.20	47.64	27.75	19.04	0	0	0	0	0

Çizelge 6.3. Fluxapyroxad+difenoconazole aktif maddelerinin farklı konsantrasyonlarında *B. cinerea* izolatlarının yüzde gelişim oranları (%).

<i>B. cinerea</i> izolatları	Fungisit Konsantrasyonu									
	0 µg/ml	0.01 µg/ml	0.03 µg/ml	0.1 µg/ml	0.3 µg/ml	1 µg/ml	3 µg/ml	10 µg/ml	30 µg/ml	100 µg/ml
M1	100	84.03	71.95	61.36	49.24	36.87	34.81	26.07	23.39	0
M2	100	93.28	81.10	73.81	63.72	55.64	46.58	0	0	0
M3	100	86.41	77.10	64.38	42.19	37.58	31.89	7.60	1.11	0
M4	100	95.10	89.94	84.59	79.18	74.93	61.70	11.83	0	0
M5	100	95.24	86.37	80.66	73.56	61.60	55.95	43.60	19.99	17.90
M6	100	85.08	82.75	60.89	52.80	41.85	43.17	21.34	15.04	0
M7	100	96.66	88.74	81.49	74.17	69.35	58.26	39.28	25.89	0
M8	100	93.09	87.92	77.11	73.87	69.26	65.30	47.83	40.38	35.51
M9	100	83.36	83.54	74.48	65.13	54.75	48.75	33.87	15.51	0
M10	100	96.39	89.80	66.94	50.93	44.84	34.46	0	0	0
M11	100	95.46	89.05	84.55	81.84	62.97	59.82	50.18	40.90	0
M12	100	93.17	79.06	61.46	55.17	54.71	50.12	31.26	14.15	0
M13	100	95.88	89.96	79.16	75.77	71.09	66.85	45.70	28.64	0
M14	100	92.06	84.52	65.53	59.54	51.12	39.00	14.04	9.83	0
M15	100	95.33	88.60	84.26	81.71	65.49	59.54	50.78	40.58	0
M16	100	98.54	94.70	85.91	76.60	61.16	50.63	42.92	17.74	15.17
M17	100	91.71	84.49	79.19	72.43	56.61	38.50	6.11	0	0
M18	100	91.97	75.86	66.53	53.46	41.73	25.93	0	0	0
M19	100	98.14	94.43	87.75	79.54	62.62	56.81	28.70	5.99	0
M20	100	92.03	81.90	74.79	60.41	43.95	35.23	0	0	0

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mehmet KAVAK

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Ziraat Müh.	Düzce Üniversitesi	2019
Lise	Sayısal	Yalova Anadolu Lisesi	2014

YAYINLAR

Yazlık, A. , Kavak, M. , Aşkın, E. , Külcüoğlu, N. , Ersoy, Ö. , Kovankaya, F. , Demirtaş, E. & Aydoğdu, A. (2020). Kentsel Yaşam Alanında Bitki Çeşitliliği ve Etkileri: Düzce Üniversitesi Konuralp Kampüsü Örneği . *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi* , 7 (1) , 66-77 . DOI: 10.19159/tutad.665404

Kavak, M. & Altın, N. (2022). Bazı fungusitlere karşı *Botrytis cinerea* etmeninin duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. 9. *Aanadolu Uluslararası Uygulamalı Bilimler Kongresi*, Diyarbakır.